



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2020 30 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (KBM)

Identifisering av betalaktamaser med utvidet spektrum (ESBL og karbapenemaser) i bakterieisolater fra vannmiljøer ved bruk av fenotypiske og genotypiske metoder

Identification of extended spectrum beta-lactamases (ESBL and carbapenemases) in bacteria isolated from water environments using phenotypical and genotypical methods

Amanda Eliassen

Kjemi og bioteknologi

FORORD

Denne oppgaven tilsvarer 30 stp og ble utført som et avsluttende prosjekt ved mastergradstudiet i kjemi og bioteknologi ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Arbeidet med denne oppgaven har vært lærerikt, og det har vært veldig spennende å finne mye informasjon om antibiotikaresistens. Det har også vært utfordrende, da det finnes veldig mye informasjon og mange begreper knyttet til dette temaet.

I prosessen med å skrive denne oppgaven har jeg fått hjelp av en rekke mennesker. Den første jeg vil takke er min veileder, Prof. Bjørn-Arne Lindstedt, for svar på spørsmål, tilbakemeldinger og konstruktiv kritikk. Jeg ønsker også å rette en veldig stor takk til stipendiat Misti Dawn Finton for hjelp både på lab og i ettertid. Hennes hjelp har vært uvurderlig.

Jeg vil også takke Astrid Brekke Øye som jeg utførte den praktiske delen av forsøket sammen med. Takk for godt samarbeid og motivasjon gjennom hele masterprosessen. Til slutt vil jeg takke min mor, far og øvrig familie for god støtte og motiverende ord.

Ås, 1. juni, 2020

Amanda Eliassen

ABSTRAKT

Antibiotikaresistens (AR) er en av de største truslene mot global helse i dag. Utviklingen av betalaktamaser med utvidet spektrum (ESBL) i *Enterobacteriaceae* vekker spesielt stor bekymring, da betalaktamer er den mest brukte antibiotikagruppen. Fokus på denne ESBL-produserende bakterier er spesielt viktig for å hindre videre utvikling av AR.

Formålet med masteroppgaven var å undersøke om bakterier til med gener som koder for ESBL var til stede i vannprøver tatt på NMBU Campus Ås. Dette kan bidra til å gi bedre oversikt over antibiotikaresistente gener (ARG) i miljøet.

Seks vannprøver ble hentet inn fra tre ulike vannkilder på NMBU Campus Ås. Prøvene ble filtrert og overført til kromogene skåler med «Oxoid Brilliance™ ESBL». DNA ble ekstrahert fra bakterieisolatene og amplifisering ved hjelp av «polymerase chain reaction» (PCR). ESBL-gener ble funnet ved hjelp av multi- og singelpleks-primere og for å påvise gener ble det kjørt en 1% agarosegelelektroforese på PCR-produktene. To av bakterieisolatene ble Sangersekvensert og helgenomsekvensert med Illumina for å få bekreftet ARG. Det ble også utført en antibiotika sensitivitetstest med 12 ulike antibiotika for å undersøke AR i tre av bakterieisolatene.

Fem bakterieisolater vokste frem på «Oxoid Brilliance™ ESBL». To av prøvene ble Sangersekvensert og helgenomsekvensert. Helgenomsekvenseringen bekreftet av prøve 3 var en *Pseudomonas aeruginosa* og at prøve 4 var en *Escherichia coli*. Begge bakteriestammene var «multi-drug resistant» (MDR) og patogene. Prøve 4 kunne kategoriseres som en ekstraintestinal patogen *E. coli* (ExPEC) og stammetypen som ble identifisert har vist pandemisk spredning. Viktige ARG i prøvene var *bla_{OXA}* og *bla_{PDC}* i *P. aeruginosa*, og *bla_{CTX-M}* i *E. coli*.

Funnene i oppgaven viste at det fantes patogen, ESBL-produserende *E. coli* i Niagarabekken på Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Campus Ås. I denne bekken finnes det også patogen, MDR *P. aeruginosa*. Mer forskning på ARG i miljøet i Norge vil være viktig for å hindre videre spredning av disse genene.

ABSTRACT

Antibiotic resistance (AR) is considered one of the largest threats towards global health today. The development of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in *Enterobacteriaceae* is of particular concern with betalactams is the most widely used group of antibiotics. Focusing on this ESBL producing bacteria is important to reduce the spreading of AR.

The purpose of this thesis was to investigate the presence of bacteria with genes encoding ESBL in water samples from NMBU Campus Ås. The investigation can provide a better insight of antibiotic resistant genes (ARG) in the environment.

Six water samples were collected from three different water sources at NMBU Campus Ås. Two of the samples were filtrated and transferred to chromogenic screening plates with «Oxoid *Brilliance*TM ESBL». DNA from the bacterial isolated was extracted and amplified using polymerase chain reaction (PCR). Genes encoding ESBL was detected using multi- and singleplex primers and a 1% agarose gel electrophoresis was used to detect positive DNA bonds. Two of the bacterial isolates were Sanger sequenced and whole genome sequenced using Illumina to confirm the presence of ARG. An antibiotic sensitivity test with 12 different antibiotics was done to investigate AR in three of the isolates.

Five bacterial isolates grew on «Oxoid *Brilliance*TM ESBL». Two samples were Sanger sequenced and whole genome sequenced. The whole genome sequencing confirmed that sample 3 was a *Pseudomonas aeruginosa* and that sample 4 was an *Escherichia coli*. Both of the bacterial strains were multi-drug resistant (MDR) and pathogenic. Sample 4 was categorized as an extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) and the strain type identified has shown a pandemic spread. Important ARG in the samples included *bla*_{OXA} and *bla*_{PDC} in *P. aeruginosa*, and *bla*_{CTX-M} in *E. coli*.

This thesis has shown that pathogenic, ESBL-producing *E. coli* could be found in the Niagara stream at the Norwegian University of Life Sciences, Campus Ås. A MDR, pathogenic *P. aeruginosa* was also found in this stream. More research on the topic of ARG in the environment in Norway will be important to prevent the genes from spreading further.

FORKORTELSER

| | |
|------------|--|
| AIEC | «Adherent-invasive <i>Escherichia coli</i> » |
| AmpC | Ampicillinase C |
| AMR | Antimikrobiell resistens |
| APEC | «Avian pathogenic <i>Escherichia coli</i> » |
| AR | Antibiotikaresistens |
| ARB | Antibiotikaresistente bakterier |
| ARG | Antibiotikaresistente gener |
| BHI | «Brain Heart Infusion» |
| <i>bla</i> | Gen som koder for betalaktamaser |
| BLAST | «Basic Local Alignment Search Tool» |
| bp | Basepar |
| CARD | «The Comprehensive Antibiotic Resistance Database» |
| CF | Cystisk fibrose |
| CTX-M | Cefotaksimase |
| DEC | Diarégenisk <i>Escherichia coli</i> |
| DNA | Deoksyribonukleinsyre |
| dNTP | Deoksynukleotid |
| EDTA | Etylen Diamin Tetra Acetat |
| EHEC | Enterohemoragisk <i>Escherichia coli</i> |
| EIEC | Enteroinvasiv <i>Escherichia coli</i> |
| EPEC | Enteropatogen <i>Escherichia coli</i> |
| ESBL | Betalaktamaser med utvidet spektrum |
| EUCAST | «The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing» |
| ExPEC | Ekstraintestinal patogen <i>Escherichia coli</i> |
| HGO | Horisontal genoverføring |
| MDR | «Multidrug»-resistens» |
| MH | Mueller-Hinton |
| MIC | «Minimum bacterial concentration» |
| NCBI | «National Center for Biotechnology Information Search database» |
| NGS | «Next Generation Sequencing» |
| NMBU | Norges miljø- og biovitenskapelige universitet |

| | |
|------|--|
| NMEC | Neonatal meningitis <i>Escherichia coli</i> |
| NORM | Norsk overvåkningssystem for antibiotikaresistens hos mikrober |
| OXA | Oxacillinase |
| PAI | Patogenisitetssøy |
| PBP | Penicillinbindende proteiner |
| PCR | «Polymerase chain reaction» |
| PDC | «Pseudomonas-derived cephalosporinase» |
| RNA | Ribonukleinsyre |
| rRNA | Ribosomal ribonukleinsyre |
| SHV | Sulfhydryl-variabel betalaktamase |
| SIRS | Systemisk inflammatorisk respons syndrom |
| TAE | Tris-acetat-EDTA |
| TEM | Temoineira betalaktamase |
| UPEC | Uropatogeniske <i>Escherichia coli</i> |
| UVI | Urinveisinfeksjon |
| VFDB | «The Virulence Factor Database» |
| WHO | «Worlds Health Organization» |

INNHALDSFORTEGNELSE

| | |
|---|----------|
| 1 INNLEDNING | 1 |
| 2 BAKGRUNN | 2 |
| 2.1 ANTIBIOTIKA | 2 |
| 2.1.1 <i>Virkemåter for antibiotika</i> | 3 |
| 2.1.2 <i>Betalaktamer</i> | 3 |
| 2.1.3 <i>Antibiotikaforbruk globalt</i> | 4 |
| 2.1.4 <i>Antibiotikaforbruk i Norge</i> | 4 |
| 2.2 ANTIBIOTIKARESISTENS | 5 |
| 2.2.1 <i>Mekanismer for erverving av antibiotikaresistens</i> | 6 |
| 2.2.1.1 <i>Mutasjoner i genene</i> | 7 |
| 2.2.1.2 <i>Horisontal genoverføring</i> | 8 |
| 2.2.1.2.1 <i>Transformasjon</i> | 8 |
| 2.2.1.2.2 <i>Transduksjon</i> | 8 |
| 2.2.1.2.3 <i>Konjugasjon</i> | 8 |
| 2.2.2 <i>Antibiotikaresistente mekanismer</i> | 9 |
| 2.2.2.1 <i>Inaktivering av antibiotika</i> | 9 |
| 2.2.2.2 <i>Redusert opptak av antibiotika</i> | 9 |
| 2.2.2.3 <i>Efflukspumper</i> | 9 |
| 2.2.2.4 <i>Endring av mål</i> | 10 |
| 2.2.2.5 <i>Resistens grunnet globale endringer i cellen</i> | 10 |
| 2.2.3 <i>Betalaktamaser</i> | 10 |
| 2.2.3.1 <i>CTX-M</i> | 11 |
| 2.2.3.2 <i>SHV og TEM</i> | 11 |
| 2.2.3.3 <i>Karbapenemaser</i> | 11 |
| 2.2.5 <i>Antibiotikaresistens globalt</i> | 12 |
| 2.2.6 <i>Antibiotikaresistens i Norge</i> | 13 |
| 2.4 <i>ESCHERICHIA COLI</i> | 14 |
| 2.5 <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> | 14 |
| 2.6 METODISK TEORI | 15 |
| 2.6.1 <i>Selektive kromogene skåler</i> | 15 |
| 2.6.2 <i>Spektrofotometer og fluorometer</i> | 16 |
| 2.6.3 <i>Polymerase chain reaction (PCR)</i> | 17 |
| 2.6.4 <i>Agarose gelelektroforese</i> | 18 |
| 2.6.5 <i>Genomsekvensering</i> | 18 |

| | |
|--|-----------|
| 2.6.5.1 Sangersekvensering | 18 |
| 2.6.5.2 Helgenomsekvensering | 19 |
| 2.6.6 Antimikrobiell sensitivitetstesting | 20 |
| 3 METODER OG MATERIALER | 21 |
| 3.1 FREMSTILLING AV PROSESSEN | 21 |
| 3.2 INNSAMLING AV VANNPRØVENE | 23 |
| 3.3 FILTRERING OG ISOLERING AV VANNPRØVENE | 23 |
| 3.4 KVALITET OG KVANTITETSSIKRING AV ISOLERT DNA | 24 |
| 3.5 16S rRNA PCR | 25 |
| 3.6 MULTI- OG SINGELPLEKS PCR | 26 |
| 3.7 AGAROSE GELELEKTROFORESE | 30 |
| 3.8 RENSING AV PCR-PRODUKTER | 31 |
| 3.9 RESULTATBEHANDLING AV 16S rRNA PCR-PRODUKTER | 32 |
| 3.10 HELGENOMSEKVENSERING MED ILLUMINA | 32 |
| 3.11 ANTIMIKROBIELL SENSITIVITETSTESTING | 33 |
| 4 RESULTATER | 34 |
| 4.1 FENOTYPISKE RESULTATER | 34 |
| 4.2 KVANTIFISERING OG RENHETSMÅLING | 35 |
| 4.3 AGAROSE GELELEKTROFORESE AV MULTI- OG SINGELPLEKS ESBL OG CAR | 36 |
| 4.4 SANGER-SEKVENSERING | 37 |
| 4.5 HELGENOMSEKVENSERING MED ILLUMINA | 38 |
| 4.6 TESTING MED ANTIBIOTIKASTRIPS | 44 |
| 5 DISKUSJON | 45 |
| 5.1 FENOTYPISK RESISTENSPÅVISNING | 45 |
| 5.2 SEKVENSERING AV 16S rRNA | 46 |
| 5.2.1 Sammenligning av resultater fra 16S rRNA-sekvensering og kromogene skåler | 47 |
| 5.3 PÅVISNING AV ANTIBIOTIKARESISTENTE GEN VED SANGERSEKVENSERING OG AGAROSE GELELEKTROFORESE | 48 |
| 5.4 PÅVISNING AV BAKTERIESTAMMER, ANTIBIOTIKARESISTENTE GEN OG VIRULENSGEN VED HELGENOMSEKVENSERING | 49 |
| 5.4.1 Kategorisering av bakteriestammene i prøvene | 49 |
| 5.4.2 Antibiotikaresistente gener i prøvene | 50 |
| 5.4.2.1 OXA (betalaktamase) | 50 |
| 5.4.2.2 PDC (betalaktamase) | 51 |
| 5.4.2.3 crpP (ciprofloxacinresistens) | 51 |
| 5.4.2.4 aph(3')-IIb (kanamycinresistens) | 52 |
| 5.4.2.5 catB7 (kloramfenikolresistens) | 52 |
| 5.4.2.6 fosA (fosfomycinresistens) | 52 |
| 5.4.2.7 EC (betalaktamase) | 53 |

| | |
|---|-----------|
| 5.4.2.8 CTX-M (ESBL)..... | 53 |
| 5.4.2.9 tet(B) (tetrasyklinresistens) | 54 |
| 5.4.2.10 erm(B) (makrolidresistens)..... | 54 |
| 5.4.2.11 mph(A) (makrolidresistens) | 55 |
| 5.4.2.12 dfr-A17 (trimetoprimresistens)..... | 55 |
| 5.4.3 Virulensgener i prøvene | 56 |
| 5.4.3.1 Virulensgener i <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 56 |
| 5.4.3.2 Virulensgener i <i>Escherichia coli</i> | 57 |
| 5.5 ANTIBIOTIKA SENSITIVITETSTESTING | 60 |
| 5.6 REFLEKSJONER RUNDT ANTIBIOTIKARESISTENSENS OPPHAV | 63 |
| 5.7 FORSLAG TIL VIDERE ARBEID..... | 64 |
| 6 KONKLUSJON | 65 |
| 7 REFERANSER | 66 |

Vedlegg 1: Bilder av agarose gelelektroforese

Vedlegg 2: BLAST resultater fra 16S rRNA og singelpleks PCR

Vedlegg 3: Resultater fra helgenomsekvenseringen

Vedlegg 4: Antibiotika sensitivitetstesting

1 INNLEDNING

Antibiotika har i flere tiår blitt brukt til behandling av infeksjonssykdommer forårsaket av bakterier. Økningen i antibiotikaresistens (AR) de siste tiårene har imidlertid vært alarmerende og anses som en stor trussel mot global helse, matsikkerhet og utvikling av moderne samfunn (World Health Organization, 2018). Bakterieinfeksjoner har igjen blitt farlige, flere tiår etter at de første pasientene ble behandlet med antibiotika. I USA får minst 2,8 millioner mennesker infeksjoner forårsaket av antibiotikaresistente bakterier årlig, og dette forårsaker over 35 000 dødsfall (CDC, 2019). En såkalt post-antibiotisk fremtid der infeksjoner og små skader kan forårsake død, er ikke nødvendigvis så langt inn i fremtiden dersom trusselen ikke tas på alvor (World Health Organization, 2014).

De fleste antimikrobielle stoffer er naturlig produserte molekyler som bidrar til bakteriers overlevelse, og AR er forventet når mange organismer interagerer i miljøet (Munita & Arias, 2016). Kort tid etter antibiotika ble introdusert til bruk hos mennesker ble det klart at bakteriene kunne utvikle resistens ved å tilegne seg gener som ga AR (Martinez, 2012). Årsaken til at AR i dag anses som en stor trussel mot global helse er menneskers overbruk og misbruk av antibiotika. I tillegg til dette forskes det lite på nye antibiotika i farmasiindustrien, og det har derfor ikke blitt oppdaget antibiotika med nye virkningsmekanismer siden 1987 (Ventola, 2015; Yazdankhah, Lassen, Midtvedt & Solberg, 2013).

En viktig resistensmekanisme som vanskeliggjør behandling av infeksjoner forårsaket av *Enterobacteriaceae* er produksjonen av betalaktamaser med utvidet spektrum (ESBL) (Shaikh, Fatima, Shakil, Rizvi & Kamal, 2015). ESBL er plasmidmedierte og utvikler seg raskt. I tillegg til å inneholde gener som koder for ESBL har disse plasmidene også ofte gener som koder for andre antimikrobielle stoffer. Dette fører til at behandling av infeksjoner forårsaket av ESBL-produserende bakterier er svært utfordrende (Rawat & Nair, 2010).

Formålet med denne masteroppgaven var å undersøke tilstedeværelsen bakterier med gener som koder for ESBL i vannkilder. Dette kan bidra til å fremme kunnskapen om AR i vannmiljø.

2 BAKGRUNN

2.1 Antibiotika

Konseptet med å bruke kjemikalier for å lindre sykdommer går tilbake til Oldtidens Egypt, Babylon og Inkariket (Kong, Schneper & Mathee, 2010). Oppdagelsen av antibiotika til klinisk bruk kan sies å være et av de største medisinske gjennombruddene på 1900-tallet. Antibiotika kan ikke bare brukes til å behandle infeksjonssykdommer, men gjør det også mulig å utføre flere moderne medisinske prosedyrer, blant annet kreftbehandling og organtransplantasjoner (Hutchings, Truman & Wilkinson, 2019). I tillegg til klinisk bruk har flere typer antibiotika i tiår blitt brukt i industrier som landbruk og husdyrhold (Zaman et al., 2017).

Antibiotikumet penicillin ble først oppdaget av Alexander Fleming i 1928, og var ute på markedet i 1946 (Kong et al., 2010). Oppdagelsen av penicillin og andre antibiotika, i tillegg til oppdagelsen av mikroorganismers produksjon av antimikrobielle stoffer, førte til at Selman Waksman startet en studie av mikrober som produsenter av antimikrobielle stoffer på slutten av 1930-tallet (Hutchings et al., 2019). Waksman definerte et antibiotikum som et stoff produsert av en mikrobe som selv i lave konsentrasjoner dreper eller hemmer veksten av andre mikrober. Denne termen brukes fortsatt, men inkluderer nå også mange «antibiotika» som industrien har fremstilt syntetisk eller semisyntetisk (Yazdankhah et al., 2013). Waksman oppdaget flere antibiotikum, og arbeidet hans initierte gullalderen for oppdagelse av antibiotika. Denne gullalderen varte fra 1940- til 1960-tallet, og nye klasser med antibiotika ble oppdaget nesten årlig ved at organismer som man trodde kunne produsere antibiotika ble isolert. De fleste antibiotika som ble funnet i løpet av disse årene er fortsatt i bruk (Hutchings et al., 2019).

Etter 1987 er det ikke oppdaget antibiotikum med nye virkningsmekanismer, og de fleste antibiotika som brukes i dag tilhører klasser som ble oppdaget før 1970. Årsaken til dette er at legemiddelindustrien får mindre økonomisk avkastning da antibiotika gis i korte kurer, i motsetning til andre medisiner som kan tas over lengre tid (Yazdankhah et al., 2013).

2.1.1 Virkemåter for antibiotika

Antibiotika har flere angrepspunkter på bakterier, og disse kan deles inn i fem ulike grupper: Forstyrrelse av celleveggsyntese, inhibering av proteinsyntese, forstyrrelse av nukleinsyresyntese, inhibering av en metabolsk vei og forstyrrelse av cellemembranfunksjonen. Ved forstyrrelse av celleveggsyntesen vil antibiotika, som for eksempel penicillin, hemme enzymene som er ansvarlig for dannelsen av peptidoglykanlaget. Dermed vil oppbyggingen av celleveggen hemmes, cellemembranen ødelegges og cellen vil dø. Ved inhibering av proteinsyntesen vil antibiotika binde seg til ribosomer og dermed hemme translasjonen. Det vil da ikke produseres proteiner, som er helt nødvendige for bakteriene. Eksempler på proteiner som inhiberer proteinsyntesen er tetrasykliner, kloramfenikol og aminoglykosider. Kinoloner og rifampicin kan påvirke nukleinsyresyntesen ved å interferere med ulike komponenter som bidrar under replikasjonen. Dette fører til brudd i DNA-dobbeltråden. Videre kan antibiotika også inhibere metabolske veier. Et eksempel på dette er sulfonamider og trimetoprim, som blokkerer viktige trinn i folatsyntesen. Cellemembranens funksjon kan forstyrres ved at membranpermeabiliteten økes slik at innhold i bakterien vil lekke ut. Et eksempel på antibiotika som gjør dette er polymyxiner (Shaikh et al., 2015).

2.1.2 Betalaktamer

Etter oppdagelsen av betalaktamet penicillin var interessen stor for å finne ut hvordan det påvirket bakterier. Gardner oppdaget at bakterier dannet filamenter ved lave konsentrasjoner av penicillin. Dette indikerte at penicillin hindrer opprettholdning av celleformen. I en annen studie viste Duguid at penicillin interfererte med celledeling og vedlikehold av cellestrukturer, noe som tydet på at penicillin hemmet syntesen av en komponent som støttet cellestrukturen (Kong et al., 2010).

I dag er betalaktamer den mest brukte klassen av antibiotika og står for 65% av alle resepter for injiserbar antibiotika i USA. I tillegg til penicillin inngår blant annet kefalosporiner, karbapenemer og monobaktamer i denne gruppen (Beceiro, Tomas & Bou, 2013). Betalaktamer er baktericide (bakteriedrepende) stoffer som forstyrrer dannelsen av celleveggen både i grampositive og gramnegative bakterier (Bush & Bradford, 2016). Dette skjer ved at de

binder seg til penicilinbindende proteiner (PBP), som er enzymer som fremmer kryssbindinger mellom D-alanyl-alanin og glycinresiduer. Det er hypotisert at betalaktamringen ligner D-alanyl-alanin. Når betalaktam binder til PBP vil ikke PBP binde til D-alanyl-alanin. Dette vil svekke celleveggsyntesen og cellen vil etter hvert lysere (Kapoor, Saigal & Elongavan, 2017).

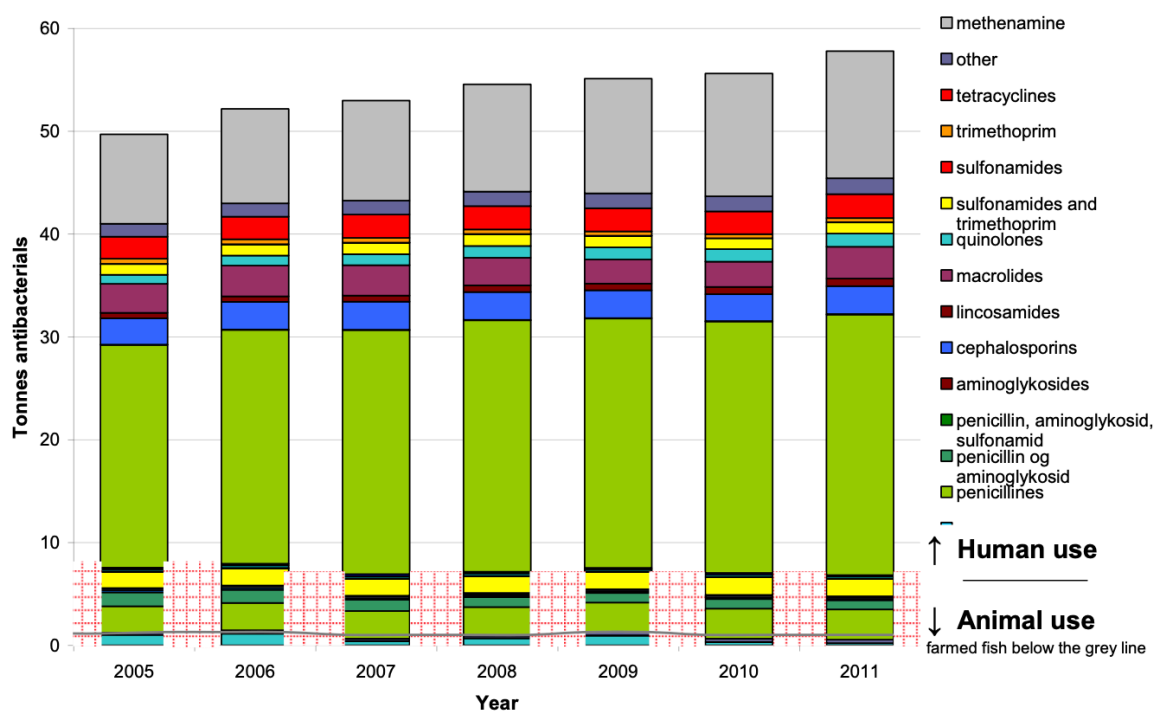
2.1.3 Antibiotikaforbruk globalt

Antibiotika er en av de mest brukte medisinene hos mennesker, men opp mot 50% av det som forskrives er unødvendig. Mengden antibiotika som brukes til matproduksjon i Europa varierer fra 4 til 400 mg antibiotika per kilo dyremasse, og i USA brukes det mer antibiotika til dyr enn til mennesker (Steinbakk et al., 2014). Europakommisjonen publiserte i 2016 resultatene fra en undersøkelse som viste at inntaket av antibiotika i EU gikk ned med 6% fra 2009 til 2016 (Europakommisjonen, 2016).

2.1.4 Antibiotikaforbruk i Norge

Nasjonale retningslinjer for antibiotikabruk bidrar til å holde antibiotikaforbruket hos mennesker i Norge lavt, men forbruket har allikevel økt jevnt de siste 8-10 årene. I 2012 ble det forskrevet 58 646 kg antibiotika i Norge. 87% ble forskrevet til mennesker, 10% til behandling av landdyr og litt under 3% til fisk. Av antibiotika som forskrives til humant bruk skjer kun 7-10% i sykehus, 85% av antibiotika skjer i allmennpraksis og resten i andre helseinstitusjoner. Antibiotikaforbruket varierer basert på kjønn og geografisk lokasjon, og man antar at disse forskjellene skyldes forskjeller i forskrivningspraksis og delvis grunnet forventninger hos publikum. (Steinbakk et al., 2014).

Sammenlignet med mange andre land har Norge en restriktiv bruk av antibakterielle midler til dyr. Totalforbruket av antibiotika for dyr har vært relativt stabilt de siste 10-12 årene. Tilsetning av antimikrobielle vekstfremmere i fôr har ikke vært i bruk i Norge siden 1995



Figur 1: Årlig salgsvolum av antibiotika i Norge både til human og veterinær bruk mellom 2005 og 2011 (Steinbakk et al., 2014).

2.2 Antibiotikaresistens

Antibiotikaresistens (AR) er reduksjon av effektiviteten et stoff har til å kurere en sykdom eller tilstand (Shaikh et al., 2015). Denne resistensen oppstår når et stoff mister sin evne til å effektivt hemme bakterievekst. Bakteriene blir resistente og fortsetter å dele seg selv om terapeutiske nivåer av antibiotika er til stede (Zaman et al., 2017).

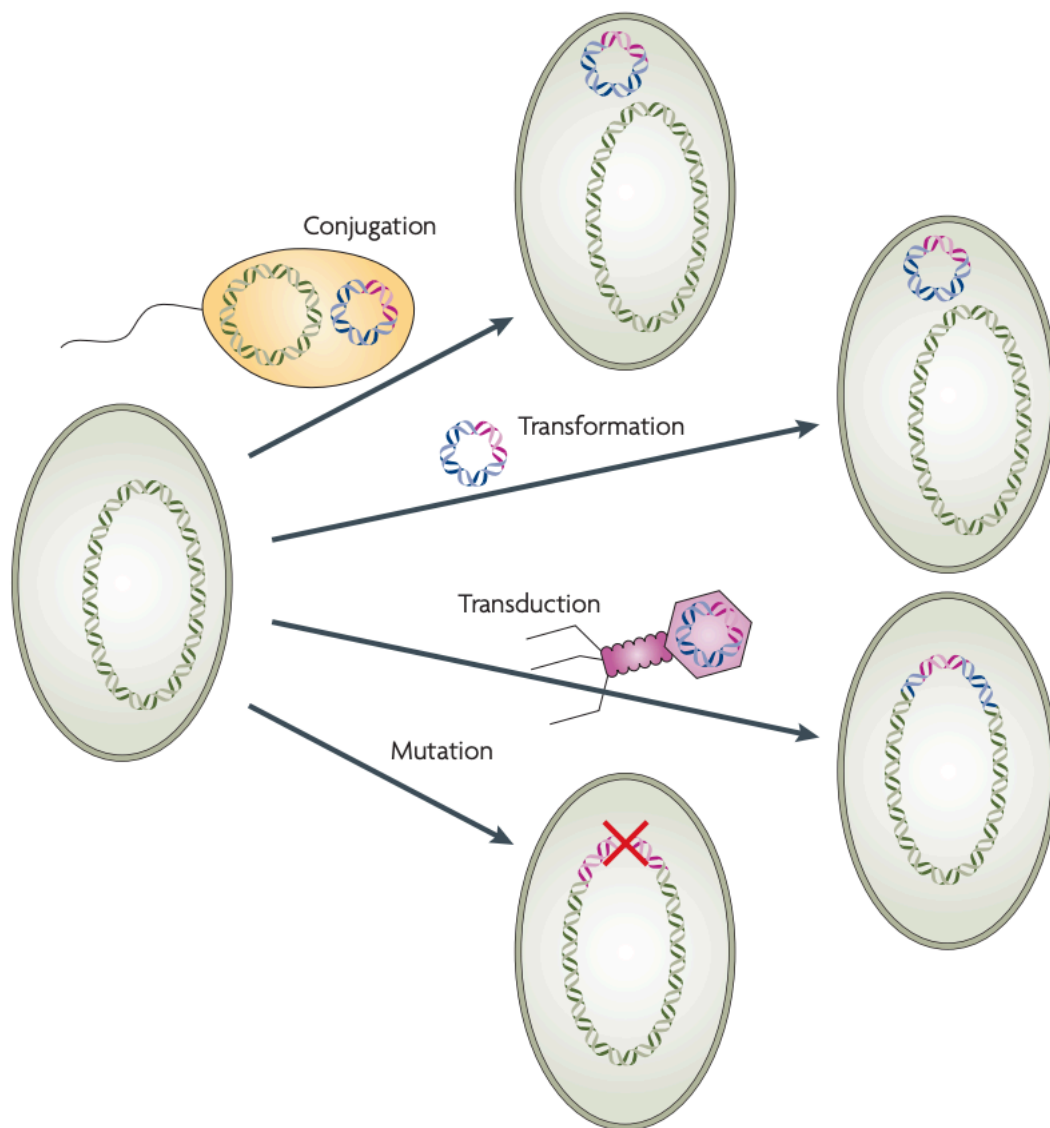
AR har eksistert fra tidlig av og er forventet når mange organismer interagerer i miljøet. De fleste antimikrobielle stoffer er molekyler som produseres naturlig og bakterier har derfor utviklet mekanismer for å bekjempe disse stoffene for å overleve. Når det snakkes om problemer knyttet til økt AR er det ikke bakterier som innehar resistens naturlig som diskuteres. Man refererer heller til de bakteriene som originalt er mottagelige for antibiotika men som har utviklet AR fordi organismen har blitt utsatt for store mengder antibiotika (Munita & Arias, 2016). I løpet av de siste 60 årene har det blitt produsert millioner av tonn antibiotika, og den enorme bruken av antibiotika over flere sektorer har bidratt til at det har oppstått nye resistente bakteriestammer og at AR øker alarmerende raskt. Flere infeksjoner,

blant annet tuberkulose og lungebetennelse, blir vanskeligere og til tider umulig å behandle når antibiotika blir mindre og mindre effektivt (Zaman et al., 2017).

AR er et problem som skaper store bekymringer både på sykehus og i samfunnet ellers. Det er i hovedsak økt bruk av antibiotika i medisin, jordbruk og dyrehold som bidrar til dette. Økningen av antibiotikaresistente bakterier (ARB) som fører til infeksjoner på eller utenfor sykehus har vært svært høy (Shaikh et al., 2015). Det er estimert at årlige dødsfall av infeksjoner som ikke kan behandles vil øke fra 700 000 i 2015 til 10 millioner i 2050 dersom man ikke får kontroll over økningen av antimikrobiell resistens (AMR) (Hu, Ogyu, Cowling, Fukuda & Pang, 2019).

2.2.1 Mekanismer for erverving av antibiotikaresistens

Bakterier som deler økologisk nisje med organismer som produserer antimikrobielle stoffer har utviklet mekanismer for å motvirke effekten til det antibiotiske molekylet. Fra et evolusjonært perspektiv har bakterier to hovedstrategier for å tilpasse seg antibiotisk angrep. Det kan oppstå mutasjoner i gener assosiert med mekanismen til det antibiotiske stoffet eller bakteriene kan tilegne seg fremmed DNA som koder for resistensdeterminanter gjennom horisontal genoverføring (HGO) (Munita & Arias, 2016).



Figur 2: Mekanismer for erverving av resistens (Andersson & Hughes, 2010).

2.2.1.1 Mutasjoner i genene

Ved mutasjoner i genene vil en liten del av en bakteriepopulasjon utvikle mutasjoner i gener som påvirker aktiviteten til stoffet. Dette vil føre til at celler overlever også når det antimikrobielle molekylet er til stede. Når en resistent mutant oppstår vil antibiotika fjerne populasjonen som ikke er resistent slik at de resistente bakteriene dominerer. Vanligvis vil mutasjoner som fører til AR endre virkningen til antibiotika ved en av følgende mekanismer: Modifisering av det antimikrobielle målet, mindre opptak av antibiotika, aktivisering av effluksmekanismer for å hindre at antibiotikumet trenger inn i bakterien, endringer av antibiotikumets mål eller globale endringer i viktige metabolske veier via modulering av regulatoriske nettverk (Munita & Arias, 2016).

2.2.1.2 Horisontal genoverføring

Bakteriers opptak av fremmed DNA gjennom HGO er en av de viktigste pådriverne av evolusjonen av bakterier, og overføring av ARG har en viktig rolle i utviklingen av «multidrug»-resistens (MDR) i bakterier. Med HGO kan DNA overføres mellom bakterier selv om de kun er fjernt beslektet (Sun, 2018). Bakterier tilegner seg eksternt genetisk materiell gjennom en av tre hovedstrategier: transformasjon, transduksjon eller konjugasjon (Munita & Arias, 2016).

2.2.1.2.1 Transformasjon

Ved transformasjon inkorporerer en bakterie nakent DNA fra omgivelsene. Det er kun noen klinisk relevante bakteriearter som naturlig kan inkorporere nakent DNA for å utvikle resistens (Munita & Arias, 2016).

2.2.1.2.2 Transduksjon

Transduksjon går ut på at en bakteriofag overfører DNA fra en celle til en annen. Ved slutten av replikasjonszyklus vil vertscellen gjennomgå lysis. Fragmentert DNA fra vertens genom kan pakkes i partikler som så kan injiseres i andre individer. Noen bakteriearter bruker denne mekanismen til sin fordel og har opparbeidet bakteriofag-gener som bidrar til utveksling av gener (Daubin & Szollosi, 2016).

2.2.1.2.3 Konjugasjon

Konjugasjon i bakterier ble først oppdaget i *E. coli*, og er overføring av DNA fra en celle til en annen via en pilus (Daubin & Szollosi, 2016; Sun, 2018). Resistens i sykehusmiljø kommer ofte fra konjugasjon, og det er sannsynlig at konjugasjon i høy grad foregår i fordøyelsessystemet til mennesker under behandling med antibiotika. Konjugasjon bruker mobile genetiske elementer for å dele genetisk informasjon, men direkte overføring fra kromosom til kromosom kan også forekomme. De viktigste mobile genetiske elementene er plasmider og transposoner, som begge spiller en viktig rolle i utviklingen av AMR blant klinisk relevante organismer (Munita & Arias, 2016). Integroner er genetiske elementer som også er svært viktige for spredning av ARG. Disse elementene kan integreres i kromosomer eller plasmider via rekombinasjon (Gillings, 2014).

2.2.2 *Antibiotikaresistente mekanismer*

Bakterier har gjennom evolusjon utviklet resistensmekanismer for å unngå å bli drept av antimikrobielle molekyler. Resistens mot en antimikrobiell klasse kan vanligvis oppnås gjennom flere biokjemiske veier og en bakteriecelle kan bruke flere ulike resistensmekanismer for å overleve effekten til antibiotika. Man ser også at bakteriearter har utviklet en preferanse for noen mekanismer fremfor andre (Munita & Arias, 2016).

2.2.2.1 Inaktivering av antibiotika

En av de mest suksessfulle strategiene bakterier bruker i tilstedeværelse av antibiotika er produksjon av enzymer som inaktiverer stoffet slik at antibiotikumet ikke kan interagere med målet. Bakterier kan produsere enzymer som kjemisk endrer det antimikrobielle molekylet. Et eksempel på dette er aminoglykosidmodifiserende enzymer, som modifiserer hydroksyl- eller aminogruppene til aminoglykosidmolekylet. Disse enzymene er hovedmekanismen for aminoglykosidresistens. Enzymer kan også inaktivere antibiotika ved å ødelegge stoffet. Et eksempel på dette er betalaktamaser, som ødelegger amidbindingen i betalaktamringen i betalaktamer (Munita & Arias, 2016).

2.2.2.2 Redusert opptak av antibiotika

Mange antibiotika som brukes klinisk har intracellulære mål eller mål lokalisert i den cytoplasmiske membranen i gram-negative bakterier. Stoffet må derfor penetrere den ytre og/eller den cytoplasmiske membranen for å ha sin antimikrobielle effekt. Bakterier har utviklet mekanismer som hindrer antibiotikumet fra å nå målet sitt ved å hindre opptak av det antimikrobielle molekylet. Hydrofile molekyler som betalaktamer, tetrasykliner og noen fluorokinoloner påvirkes spesielt av endringer i permeabiliteten til den ytre membranen, da de ofte bruker diffusjonskanaler for å krysse denne membranen (Munita & Arias, 2016).

2.2.2.3 Efflukspumper

Produksjon av komplekse bakterielle maskinerier som kan trengte et giftig stoff ut fra cellen kan også føre til AMR. Allerede tidlig på 1980-tallet ble det beskrevet et effluksystem som kunne pumpe tetrasyklin ut av cytoplasma hos *E. coli*. Siden da har mange klasser efflukspumper blitt karakterisert i både gram-positive og gram-negative patogener. Disse

systemene kan være substratspesifikke eller virke på flere ulike substrater. Sistnevnte er vanlig i MDR-bakterier. Denne resistensmekanismen virker på mange ulike antimikrobielle klasser, inkludert antibiotika som inhiberer proteinsyntesen, betalaktamer, karbapenemer og polymyxiner (Munita & Arias, 2016).

2.2.2.4 Endring av mål

Bakterier kan utvikle AR ved å unngå at antibiotikumet kommer i kontakt med målet. For å oppnå dette har bakterier utviklet ulike strategier. En av disse strategiene er å beskytte målet slik at antibiotikumet ikke når frem. En annen strategi er å modifisere målet slik at affiniteten til antibiotikamolekylet blir lavere. Dette er en av de vanligste mekanismene ved AR i patogener. Målendringene kan bestå av punktmutasjoner i gener som koder for målstedet, enzymatiske endringer av bindingssetet og/eller erstatning av målet. Dette fører til at målet får lavere affinitet til antibiotikumet (Munita & Arias, 2016).

2.2.2.5 Resistens grunnet globale endringer i cellen

Gjennom mange år med evolusjon har patogener utviklet komplekse mekanismer for å håndtere stress fra miljøet og hindre forstyrrelse av nødvendige prosesser i cellen, som celleveggsyntese. Utvikling av resistens mot daptomycin og vancomycin er eksempler på denne typen mekanisme (Munita & Arias, 2016).

2.2.3 *Betalaktamaser*

Betalaktam-antimikrobielle stoffer er den vanligste behandlingen for bakterielle infeksjoner (Shaikh et al., 2015), og produksjonen av disse er hovedårsaken til gram-negative bakteriers resistens til betalaktamer. Eksponeringen av betalaktamer til en mengde bakteriestammer har ført til en dynamisk og kontinuerlig produksjon og mutasjon av enzymer som hemmer betalaktamene i disse bakteriene. Disse enzymene er kjent som betalaktamaser med utvidet spektrum (ESBL) (Shaikh et al., 2015), og ble først beskrevet i 1983 (Knothe, Shah, Krcmery, Antal & Mitsuhashi, 1983). Produksjonen av ESBL er en resistensmekanisme som hindrer antimikrobiell behandling av infeksjoner forårsaket av *Enterobacteriaceae* (Shaikh et al., 2015). ESBL kan hydrolysere og danne resistens mot flere nye betalaktam-antibiotika, inkludert tredje generasjons kefalosporiner og monobaktamer. Dette skjer ved at enzymene

kløyver amidbindingen i betalaktam-ringen slik at betalaktamer ikke er skadelige for bakteriene (Bonnet, 2004).

2.2.3.1 CTX-M

De mest utbredte ESBL er CTX-M betalaktamasene. De ble først oppdaget på siste halvdel av 1980-tallet og i 1995 hadde de blitt observert i store deler av verden (Bonnet, 2004). I dag har mer enn 100 varianter av CTX-M-proteinet blitt sekvensert. Basert på aminosyresekvensene kan de deles inn i fem grupper (CTX-M gruppe 1, 2, 8, 9 og 25). CTX-M ESBL ble ervervet ved HGO av konjugative plasmider eller transposoner fra andre bakterier (Shaikh et al., 2015). Enzymet finnes ofte i *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* og andre *Enterobacteriaceae* (Munita & Arias, 2016). Det er sannsynlig at *bla*_{CTX-M}-genene som koder for CTX-M kommer fra ulike arter i *Kluyvera*-slekten og har blitt overført til plasmider tilpasset *E. coli* (Knudsen et al., 2018).

2.2.3.2 SHV og TEM

TEM-1 ble først oppdaget i et *E. coli*-isolat i 1965, og er den første plasmid-medierte betalaktamasen funnet i gram-negative bakterier. Enzymet kan hydrolysere penicillin og første generasjons kefalosporiner. SHV-1 betalaktamasen finnes oftest i *K. pneumoniae* og står bak opp til 20% av plasmidmediert ampicillinresistens i arten. I mange stammer av *K. pneumoniae* er *bla*_{SHV-1} eller et relatert gen integrert i det bakterielle kromosomet. Det finnes relativt få derivater av SHV-1 (Bradford, 2001). SHV- og TEM-enzymene var opprinnelig smalspektret, men har utviklet seg til ESBL (Liakopoulos, Mevius & Ceccarelli, 2016; Robin et al., 2007). De fleste ESBL er derivater av TEM- eller SHV-enzymene, og det finnes mer enn 90 TEM-betalaktamaser og mer enn 25 SHV-betalaktamaser (Bradford, 2001).

2.2.3.3 Karbapenemaser

Karbapenemer er svært viktige for behandling av infeksjoner forårsaket av ESBL-produserende organismer, da disse organismene ikke har vært resistente mot denne antibiotikaklassen (Gupta, Limbago, Patel & Kallen, 2011). Karbapenemene er svært effektive mot mange bakteriearter og er mindre sårbare for faktorer som gir betalaktamresistens enn mange andre antibiotikaklasser. Grunnet dette brukes karbapenemer ofte som en siste utvei ved behandling av infeksjoner forårsaket av bakterier (Meletis, 2016).

De senere årene har det imidlertid vært en økning i betalaktamaser som også kan hydrolysere karbapenemer (Gupta et al., 2011). Karbapenemaser er den mest allsidige familien av betalaktamaser (Queenan & Bush, 2007). Økningen av karbapenemase-produserende bakterier har vært dramatisk, og produksjonen av disse er spesielt problematisk hos medlemmer av *Enterobacteriaceae*-familien. I tillegg er bakterier som produserer karbapenemase ofte resistente mot flere antibiotikaklasser, og dette fører til at det er vanskelig å behandle sykdom forårsaket av disse bakteriene. Karbapenemasegener er ofte lokalisert på mobile genetiske elementer, noe som gjør det enklere for gener å spre seg mellom bakterier (Bonomo et al., 2018). Karbapenemaser hydrolyserer karbapenemer og andre betalaktamer og det er dette som gir bakteriene med karbapenemaser resistens mot disse stoffene (Jeon et al., 2015).

2.2.5 Antibiotikaresistens globalt

Tidligere ble det antatt at spredning av resistensgener hovedsakelig skjer fra menneskeskapt miljø til naturlige miljø (Steinbakk et al., 2014). Det er nå kjent at antimikrobiellresistente bakterier og relaterte resistente gener i miljøet er med på å spre antimikrobiell resistens og at flere antimikrobiellresistente gener som assosieres med sykdommer hos mennesker stammer fra miljøet. Fokus på ARG i miljøet er nødvendig for å hindre spredning av AMR (Waseem, Williams, Stedtfeld & Hashsham, 2017). AR ervervet av en bakteriepopulasjon i et miljø kan spres til andre miljø på en global skala grunnet økt reisevirksomhet og import av dyr, fôr og mat. I tillegg kan naturlige miljø eksponeres for utslipp av antiseptiske og antimikrobielle midler som produseres farmasøytisk. Enkelte steder foregår det store utslipp av antibiotika til ytre miljø (Steinbakk et al., 2014). Et eksempel på dette er i India, der 37,9% av *E. coli*-isolater funnet i kloakken inneholdt ESBL eller karbapenemaser, og mer enn halvparten av isolatene var resistente mot andre antimikrobielle stoffer (Waseem et al., 2017). Denne typen eksponering sammen med eksponering til antimikrobielle midler som forekommer naturlig kan føre til seleksjons-basert utvikling og spredning av AMR (Steinbakk et al., 2014).

I enkelte deler av verden er det rapportert at over 60% av *E. coli* og *K. pneumoniae* er resistent til viktige betalaktam-antibiotika som brukes på sykehus. Bruken av betalaktam- og aminoglykosid-antibiotika har vært høy og ved resistens mot disse har karbapenemer og fluorokinoloner blitt brukt. Nå er fluorokinolonresistens til stede i halvparten av rapporterte

kliniske isolater av *E. coli* mange steder i verden, og enkelte steder rapporteres det om karbapenemresistens i like mange isolater (Iredell, Brown & Tagg, 2016).

2.2.6 Antibiotikaresistens i Norge

Norsk overvåkningssystem for antibiotikaresistens hos mikrober (NORM) bidrar til at vi i Norge har god oversikt over AR hos utvalgte mikrober. Overvåkingen viser en økning i resistens mot betalaktamer, aminoglykosider og fluorokinoloner hos enterobakterier, og de fleste enterobakterier som inngår i overvåkningssystemet har hatt en økning i resistens. Karbapenemer er ESBL som helst kun skal brukes til behandling av alvorlige infeksjoner hos mennesker. Den økende forekomsten av resistens i denne gruppen skaper derfor bekymring. (Steinbakk et al., 2014).

Sammenlignet med mange andre land er AR hos produksjonsdyr i Norge lav. Unntaket er kjøtt fra kylling og kalkun produsert i Norge, som ofte er kontaminert med *E. coli* som er resistent mot kefalosporiner (ESBL) og/eller kinoloner. I 2011 ble ESBL-produserende *E. coli* funnet i 43% av de undersøkte flokkene og i 2012 ble disse bakteriene funnet i 32,2% av undersøkte kyllingfileter tilgjengelig i butikk. Disse matvarene kan derfor være en kilde til økt forekomst av resistente bakterier hos mennesker, men til tross for den økte forekomsten av kefalosporinresistens hos *E. coli* fra syke mennesker er økningen foreløpig ikke knyttet til forekomsten av resistent *E. coli* i kyllingkjøtt. Man vet heller ikke om kinolonresistent *E. coli* har funnet en nisje i humane populasjoner. Situasjonen blant produksjonsdyr i Norge er allikevel generelt gunstig. Norge har en relativt liten befolkning og en begrenset husdyrpopulasjon som er spredd utover et stort geografisk område. I tillegg er vi omgitt av hav i utkanten av Europa med naboland som også har lav forekomst av AR. (Steinbakk et al., 2014).

Multiresistent *E. coli* har blitt påvist hos rødrev i Norge, men resultater fra en tidligere undersøkelse tyder på at forekomsten av resistent *E. coli* i viltlevende pattedyr er lav. Det er allikevel svært begrenset kunnskap om resistens hos bakterier i naturmiljø og viltlevende pattedyr i Norge. En sammenheng mellom avrenning fra husdyrproduksjon og AR i jord- og vannmikrobiota er dokumentert, og enkelte studier viser at utvikling av AR i sedimenter, vann og overflater knyttet til fiskeoppdrett (Steinbakk et al., 2014).

2.4 Escherichia coli

E. coli er den mest studerte mikroorganismen i verden, og er både en naturlig del av tarmfloraen og en av de viktigste patogene organismene i mennesker. *E. coli* er hovedårsaken til sepsis og urinveisinfeksjoner (UVI) blant gramnegative bakterier, og kan infisere andre ekstraintestinale områder. Alvorlige *E. coli*-infeksjoner kan ofte resultere i systemisk inflammatorisk respons syndrom (SIRS), som fører til estimerte 40 000 dødsfall i USA årlig. *E. coli* er en divers bakterieart og man kan se på tre undergrupper. Kommensale stammer koloniserer en del av tykktarmen og fører vanligvis ikke til sykdom. En undergruppe kan gi diaré sykdom som varierer i patogenese basert på stammens virulensstrekk. Disse forskjellene gjør det mulig å klassifisere stammene i nye undergrupper, som inkluderer enterohemoragisk *E. coli* (EHEC), enteropatogen *E. coli* (EPEC) og enteroinvasiv *E. coli* (EIEC). Disse stammene fører svært sjeldent til ekstraintestinale infeksjoner. Den siste undergruppen inneholder ekstraintestinal patogen *E. coli* (ExPEC). Denne gruppen koloniserer ofte tarm hos mennesker, som er ufarlig, men kan også overleve i normalt sterile ekstraintestinale områder. Dette kan føre til sykdom, og ExPEC er hovedårsaken til ekstraintestinale *E. coli*-infeksjoner hos mennesker (Vila et al., 2016).

2.5 Pseudomonas aeruginosa

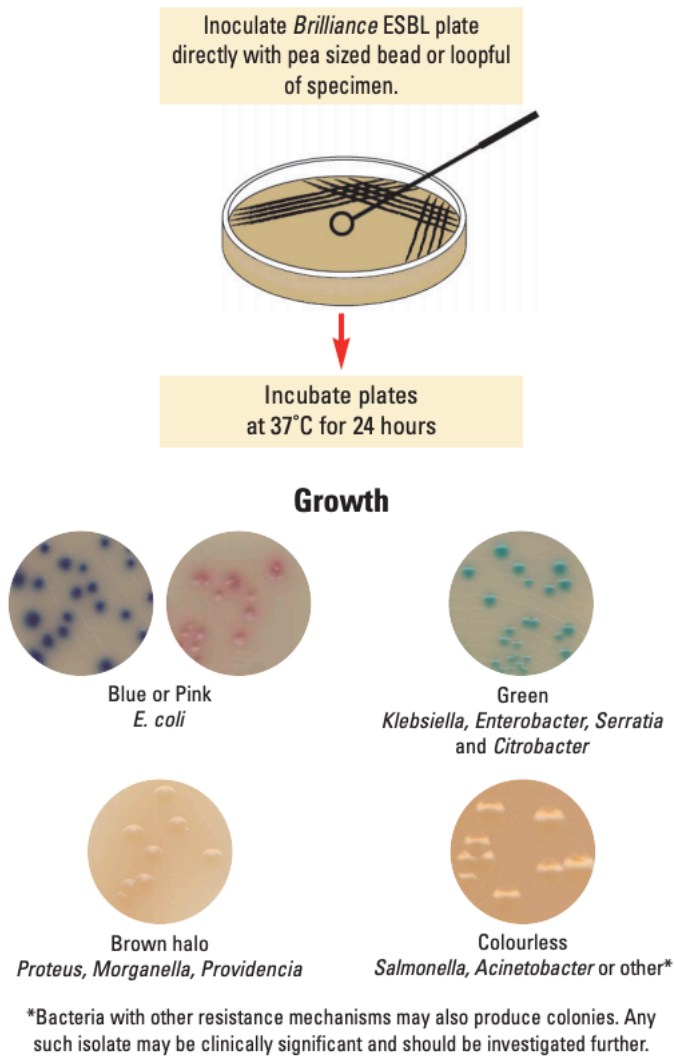
P. aeruginosa er en gramnegativ bakterie i Pseudomonadaceae-familien som kan overleve i mange ulike miljøer. Bakteriearten anses som en opportunistisk patogen og er den vanligste assosiert med nosokomiale infeksjoner og ventilatorassosiert pneumoni. Dette påvirker sjeldent friske individer, men fører til høy dødelighet hos personer med cystisk fibrose (CF) og nedsatt immunforsvar. Infeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa* har blitt vanskeligere å behandle enn tidligere grunnet bakteriens evne til å motstå mange typer antibiotika, og Verdens Helseorganisasjon har oppført karbapenem-resistent *P. aeruginosa* som en av tre bakteriearter som det er kritisk å utvikle nye antibiotika mot (Pang, Raudonis, Glick, Lin & Cheng, 2019). Resistensen mot betalaktamer i *P. aeruginosa* kommer hovedsakelig av overproduksjon av kefalosporinase, endringer av yttermembranproteinet OprD, overekspresjon av effluxpumper eller av at celleveggen er lite permeabel (Bonnin et al., 2018).

2.6 Metodisk teori

2.6.1 Selektive kromogene skåler

Selektive kromogene skåler med «Oxoid *Brilliance*TM ESBL» kan benyttes til detektering av ESBL-produserende bakterier i familien *Enterobacteriaceae* (Huang, Bogaerts, Berhin, Guisset & Glupczynski, 2010). Hovedsakelig er det *E. coli* og *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. og *Citrobacter* spp. (KESC-gruppen) som vokser på disse mediene. Skålene er klare til bruk og resultatet er klart i løpet av 24 timer. «Oxoid *Brilliance*TM ESBL» inneholder cefopodoxim som sammen med andre antibakterielle stoffer hemmer vekst av *Enterobacteriaceae* som ikke produserer ESBL, undertrykker vekst av de fleste AmpC organismer og andre bakterier som ikke produserer ESBL. Skålen kan inokuleres direkte med avføringsprøver, «swabs», isolerte kolonier eller suspensjoner. Ved å se på fenotypen kan man gjøre en presumptiv identifikasjon, da agaren inneholder to kromogener som sikter seg inn på to enzymer. KESC-gruppen produserer galactosidase og gir grønne kolonier, mens *E. coli* produserer både galactosidase og glucuronidase og gir blå kolonier. *Proteus*, *Morganella* og *Providencia* anvender ingen av kromogenene, men deaminerer tryptofan, og dette gir beige kolonier (Thermo Fisher Scientific Inc., 2010a).

Screening Procedure



No Growth

Negative plates should be re-incubated for an additional 24 hours

Figur 3: Inokuleringsprosedyre ved bruk av «Oxoid Brilliance™ ESBL» (Thermo Fisher Scientific Inc., 2010a).

2.6.2 Spektrofotometer og fluorometer

Spektrofotometere kan brukes til å måle renheten til en prøve med DNA, RNA eller proteiner. I denne oppgaven ble NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc.) benyttet.

Spektrofotometeret måler absorbansen av molekylene i en prøve ved en gitt bølgelengde. For å bestemme renheten i en prøver med DNA og RNA brukes ratioen $A_{260/280}$. Dersom ratioen ligger rundt 1,8 for en DNA-prøve anses den som ren, og for RNA gjelder det samme for en

ratio rundt 2,0. En lavere ratio tyder på tilstedeværelse av proteiner, fenoler eller andre kontaminanter i prøven. For å måle renheten til nukleinsyrer brukes ratioen $A_{260/230}$. Verdiene for rene nukleinsyrer ligger vanligvis innenfor 1,8-2,2, og en lavere ratio tyder på kontaminanter i prøven (Thermo Fisher Scientific Inc., 2009).

I denne oppgaven ble Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) benyttet til å kvantifisere DNA i prøvene. Fluorometeret gjør det mulig å kvantifisere DNA, RNA og protein i en prøve på under 5 sekunder og gir nøyaktige resultater da prøven tilsettes fargestoffer som kun fluorescerer i kontakt med DNA, RNA eller protein. Kontaminanter i prøven vil derfor ikke påvirke resultatene fra kvantifiseringen (Thermo Fisher Scientific Inc., 2010b).

2.6.3 Polymerase chain reaction (PCR)

PCR er en metode som muliggjør «in vitro» syntese og amplifisering av spesifikke DNA-fragmenter. Teknologien ble utviklet i 1985 og blir i dag allment brukt i flere ulike fagfelt. Metoden har høy sensitivitet, nøyaktighet og spesifisitet (Yu, Cao & Ji, 2017). Det skilles ofte mellom kvalitativ og kvantitativ PCR. Kvalitativ PCR brukes ofte for til å klonere DNA eller identifisere et patogen. Kvantitativ «real-time» PCR indikerer i tillegg hvor mye av et spesifikt DNA-fragment eller gen som er til stede i prøven, og gjør det mulig å detektere og kvantifisere PCR-produktet mens det syntetiseres (Garibyan & Avashia, 2013).

En PCR-reaksjon krever templat-DNA, primere, nukleotider og DNA polymerase. DNA-polymerasen fester individuelle nukleotider sammen for å danne PCR-produktet. Primerne i reaksjonen er korte DNA-fragmenter med en definert sekvens, og spesifiserer hvilket DNA-produkt som skal amplifiseres da DNA polymerasen benytter primerne som startpunkt (Garibyan & Avashia, 2013). PCR-reaksjonen består av tre trinn. Det første trinnet går ut på å denaturere DNA til enkelttrådet DNA. Dette gjøres vanligvis på 94-95 °C i 30 sekunder (Integrated DNA Technologies, 2011). Deretter senkes temperaturen slik at de spesifikke primerne kan binde til de enkelttrådede DNA-segmentene. Denne prosessen kalles annealing og primerne binder kun til DNAet hvis de har komplementære sekvenser. I det siste trinnet, elongeringen, økes temperaturen igjen og DNA polymerase utvider primerne ved å tilsette nukleotider til den nye DNA-tråden. Ved hver repetisjon av disse trinnene vil antallet DNA-

kopier dobles. Visualisering av PCR-produktet gjøres ofte med agarose gelelektroforese (Garibyan & Avashia, 2013).

2.6.4 Agarose gelelektroforese

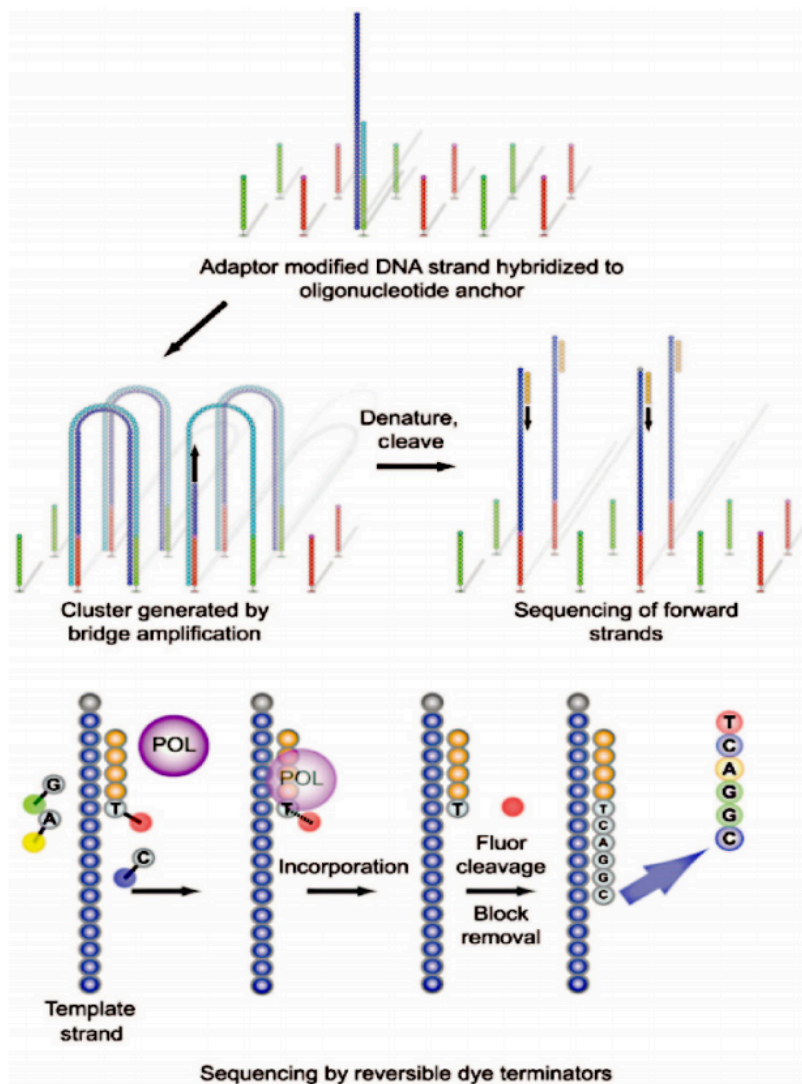
Agarose gelelektroforese er den mest effektive måten for å separere DNA-fragmenter av ulike størrelser mellom 100 bp til 25 kb (Lee, Costumbrado, Hsu & Kim, 2012). Agarose er et polysakkarid (Westermeier, 2005). Bruken av agarose gelelektroforese revolusjonerte separering av DNA og var mer nøyaktig enn tidligere metoder som ble brukt for å separere DNA basert på størrelse. For å separere DNA med agarose gelelektroforese blir DNA overført til brønner i en agarosegel og en elektrisk strøm settes på. Fosfat-ryggraden til DNA og RNA er negativt ladet, og når en elektrisk strøm settes på vil DNA-fragmentene migrere til den positivt ladde anoden. DNA har en uniform masse/ladning-ratio, og DNA-molekylene separeres derfor basert på størrelse. De minste DNA-fragmentene vil bevege seg lettere gjennom gelen enn de større fragmentene (Lee et al., 2012). Hvor raskt DNA-fragmentene migrerer avhenger av styrken på det elektriske feltet og størrelsen på molekylene i forhold til størrelsen på porene i gelen (Westermeier, 2005). Porestørrelsen til en agarosegel avhenger av konsentrasjonen av agarose. Agarose løses opp i vann under oppvarming og ved nedkjøling dannes en gel (Westermeier, 2005).

2.6.5 Genomsekvensering

2.6.5.1 Sangersekvensering

Sekvensering brukes for å finne rekkefølgen til nukleotidene i en DNA-tråd. En av de mest brukte sekvenseringsmetodene er Sangersekvensering. Denne sekvenseringsmetoden går ut på at DNA polymerase amplifiserer DNA. Under amplifiseringen tilsettes deoksynukleotider, men i tillegg tilsettes også fire fluoriserende dideoksynukleotider i hver sin reaksjonsblanding. Disse mangler en hydroksylgruppe og elongeringen vil stanse når disse settes inn i stedet for deoksynukleotidene. Produktet fra amplifiseringen vil inneholde fragmenter i ulike lengder, alt etter hvor dideoksynukleotidene har blitt satt inn. For å skille DNA-molekylene fra hverandre benyttes en polyakrylamidgel, og sekvensen til templatet kan leses ut fra mønsteret til båndene på gelen (Valencia, Pervaiz, Husami, Qian & Zhang, 2013).

tråden til DNA er igjen til sekvenseringen. Ved sekvenseringen tilsettes nukleotider med fluorescent farge. Til slutt fjernes alle overflødige reagenser og fluorescenssignalet fanges opp av et apparat før den også fjernes. Sekvenseringssyklusen gjentas til alle nukleotider er identifisert (Valencia et al., 2013).



Figur 5: Illustrerer sekvenseringsprosessen ved bruk av Illumina (*Applications of Clinical Microbial Next-Generation Sequencing: Report on an American Academy of Microbiology Colloquium held in Washington, DC, in April 2015, 2016*).

2.6.6 Antimikrobiell sensitivitetstesting

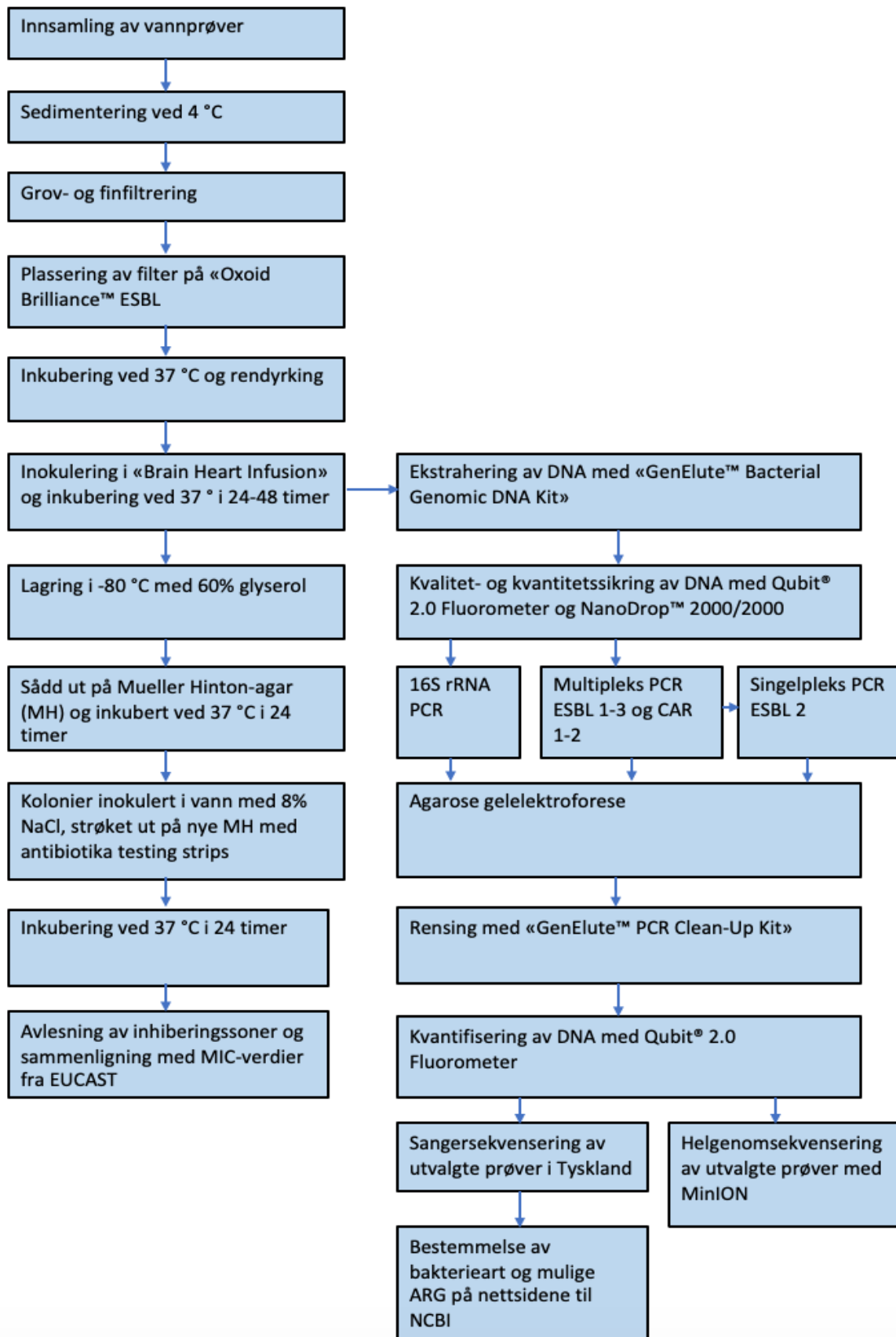
Antimikrobiell sensitivitetstesting kan brukes til å detektere mulig resistens i patogene organismer, og er viktig for å sikre at en bakterie er sensitiv for utvalgte antimikrobielle

stoffer eller for å undersøke om bakterieisolater er resistente (Jørgensen & Ferraro, 2009). Dette kan blant annet gjøres ved å kombinere prinsippet bak fortynningsmetoder og diffusjonsmetoder for å bestemme en MIC-verdi. Kommersiell bruk av denne metoden går ut på at en plaststripe med økende konsentrasjonsgradient av det antimikrobielle stoffet plasseres på overflaten av agar inokulert med mikroorganismen som skal testes. MIC-verdien bestemmes ved å se hvor hemningssoneelipsen og plaststripen møtes. Metoden er enkel å benytte og brukes ofte, men kan bli dyr dersom mange stoffer skal testes (Balouiri, Sadiki & Ibnsouda, 2016).

3 METODER OG MATERIALER

3.1 Fremstilling av prosessen

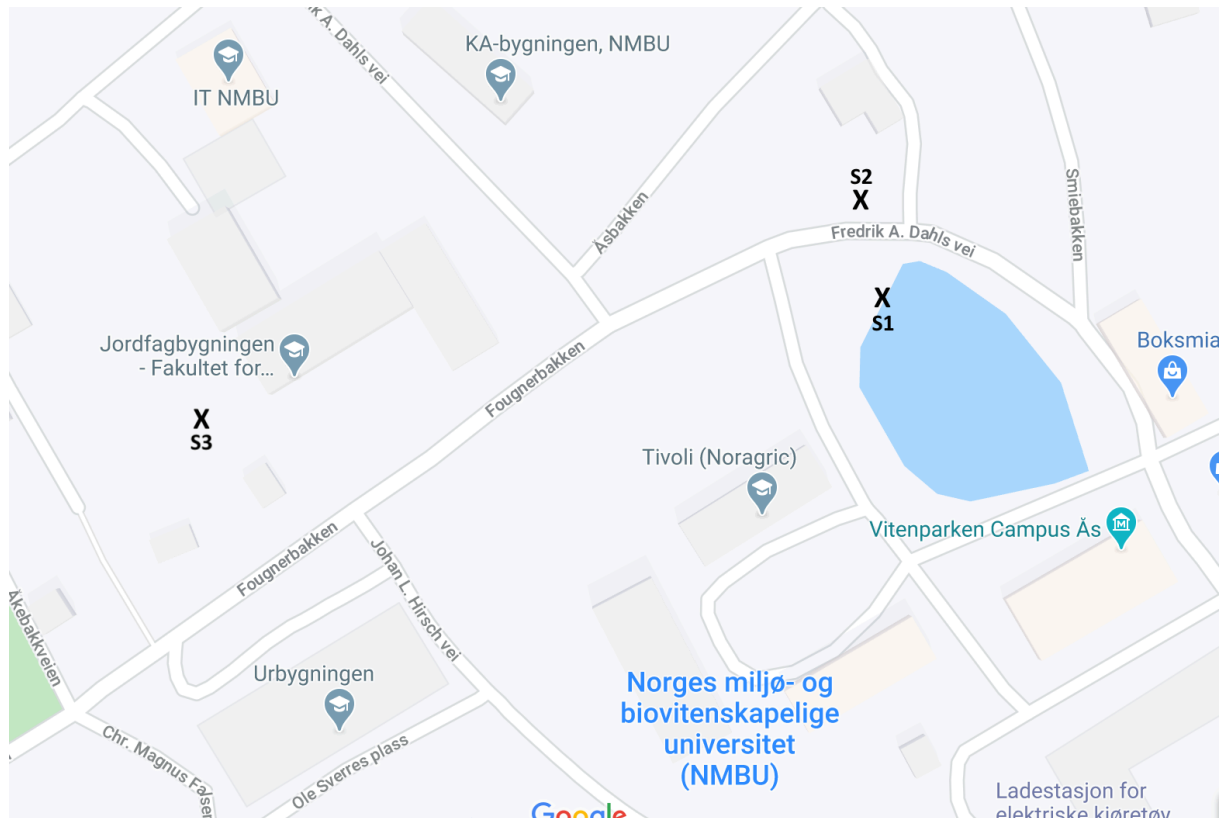
Figur 6 illustrerer prosessen fra vannprøver ble innsamlet fra Andedammen, Niagarabekken og en bekk plassert mellom Urbygningen og det nye veterinærbygget på NMBU, og den videre behandlingen av disse vannprøvene.



Figur 6: Flytskjema som viser fremgangsmåten fra vannprøvene ble tatt til antimikrobiell sensitivitetstesting, Sangersekvensering og helgenomsekvensering.

3.2 Innsamling av vannprøvene

Vannprøver ble hentet inn fra Andedammen, Niagarabekken og en bekk plassert mellom Urbygningen og det nye veterinærbygget ved NMBU vinteren 2020. Autoklaverte blåtoppflasker (1000 ml) ble fylt opp med vann. De ble deretter plassert i kjølerom over natten for at vannet skulle sedimentere. Figur 7 illustrerer hvor vannprøvene ble hentet.



Figur 7: Kart over området der prøvene ble hentet fra. Prøve S1 ble hentet fra Andedammen, S2 fra Niagarabekken og S3 ble hentet fra en bekk som ligger mellom Urbygningen og det nye veterinærbygget.

3.3 Filtrering og isolering av vannprøvene

Vannprøvene ble filtrert slik at jord og andre partikler ble fjernet fra prøvene. Vannet ble først grovfiltrert med «Whatman 589/1 150 mm i diameter» (GE Healthcare Life Sciences, Pittsburgh, USA). Filtrene ble plassert i hver sin trakt, og omtrent 500 ml av vannprøvene ble filtrert gjennom og ned i Erlenmeyerkolber. Deretter ble vannet finfiltrert med en «Microfil Support Stainless Steel Frit MISP00002» (Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland) som var koblet til vannkran. Her ble EZ-pak® membranfilter (Merck KGaA) med en porestørrelse på

0,22 μM plassert og over filtrene ble det plassert plastbegre med hull nederst. 100 ml av vannprøvene fylt opp i plastbegrene. Vannprøvene ble fjernet og skylt ut i vasken ved hjelp av trykk fra vannkranen. Denne prosessen foregikk sterilt, og både pinsetten som ble brukt og filteret i rustfritt stål ble sterilisert før bruk. Etter filtreringen ble filtrene plassert på skåler med «Oxoid *Brilliance*[™] ESBL» (Thermo Fisher Scientific Inc., Hampshire, Storbritannia), som ble inkubert ved 37 °C i ett døgn.

De resistente bakteriekoloniene som vokste frem ble deretter rendyrket ved at de ble strøket ut på nye skåler med plastpodenåler. Skålene ble så inkubert ved 37 °C i tre døgn. Etter rendyrking ble utvalgte bakteriekolonier overført til romtemperert «Brain Heart Infusion»-buljong (BHI) (Oxoid Ltd, Hampshire, Storbritannia) med plastpodenål. Hvilke kolonier som ble plukket ut ble bestemt ut fra fenotypen til de ulike bakteriekoloniene, og det var hovedsakelig de blå, grønne, beige og brune koloniene som ble plukket. For å øke konsentrasjonen av bakterier ble denne buljongen også inkubert ved 37 °C i ett døgn. 500 μl BHI ble overført til 2 ml kryorør (Nunc[™] CryoTubes[™], Thermo Fisher Scientific Inc.) sammen med 500 μl av 60% glyserol. Rørene ble plassert i fryser ved -80 °C for senere bruk.

DNA fra koloniene som ble inkubert i BHI-buljong ble isolert med «GenElute[™] Bacterial Genomic DNA Kit» (Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA). Protokollen for gram-positive bakterier fra produsenten ble fulgt. Unntaket for dette var ved eluering, der «SequelPrep[™] Normalization Elution Buffer» (Thermo Fisher Scientific Inc.) ble brukt i stedet for elueringsbufferen som fulgte med. Protokollen for gram-positive bakterier ble fulgt fordi det ikke var kjent hvilke bakterieisolater som vokste på petriskålene, og protokollen for gram-positive bakterier inneholdt enzymet lysozym som kan bryte ned peptidoglykanlaget i celleveggen til eventuelle gram-positive bakterier. Årsaken til at elueringsbufferen ble byttet ut var at bufferen som fulgte med settet inneholdt EDTA, som kan ødelegge sekvenseringen (Kolbert & Persing, 1999). DNAet ble deretter satt i fryser ved -20 °C frem til det skulle brukes igjen.

3.4 Kvalitet og kvantitetssikring av isolert DNA

For å kvalitet- og kvantitetssikre DNA-innholdet i prøvene ble Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) og NanoDrop[™] 2000 Spektrofotometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) benyttet. Ved bruk av NanoDrop[™] 2000 Spektrofotometer ble 2 μl vann brukt

til å kalibrere apparatet. 2 µl DNA ble pipettert ut fra bakterieisolatene. Linsen ble vasket mellom hver prøvetakning og programvaren NanoDrop 2000/2000C (Thermo Fisher Scientific Inc.) ble brukt til å lese av resultatene. Før DNAet kunne kvantitetsikres ved bruk av Qubit 2.0 Fluorometer ble det klargjort ved hjelp av «Qubit® dsDNA BR Assay Kit» (Thermo Fisher Scientific Inc.). Det ble først laget en arbeidsløsning som beskrevet i produsentens protokoll. 2 µl DNA fra bakterieisolatene ble blandet sammen med 198 µl arbeidsløsning. 10 µl av de to standardene som fulgte med settet ble blandet med 190 µl arbeidsløsning, og deretter brukt til å lage en standardkurve som løsningen med bakterieisolatene ble målt opp mot.

3.5 16S rRNA PCR

For amplifisering av 16S rRNA-genet ble «iProof™ High Fidelity DNA Polymerase Kit» (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, USA) og et primerpar som kodet for 16S rRNA anvendt (se Tabell 1). Tabell 2 viser hvilke reagenser som ble benyttet og mengden av disse. Protokollen fra produsenten ble fulgt. For å kjøre 16S rRNA PCR ble C1000 Touch™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc.) benyttet, og maskinen ble stilt inn på programmet som er vist i Tabell 3.

Tabell 1: Primerpar, primersekvens, målgen og antallet bp som ble brukt til deteksjon av 16S rRNA.

| Primer | Primersekvens (5'-3') | Målgen | Basepar (bp) |
|--------|-----------------------|----------|--------------|
| F | GAGTTTGATCCTGGCTCAG | 16S rRNA | 1505 |
| R | GGTTACCTTGTTACGACTT | | |

Tabell 2: Komponentene benyttet til 16S rRNA PCR amplifisering og deres konsentrasjoner og volum.

| Komponent | Startkonsentrasjon | Sluttkonsentrasjon | Volum (μ l) per reaksjon |
|------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|
| Reaksjonsmiks: | | | |
| Iproof HF buffer | 5x | 1x | 8 |
| dNTPs | 10 mM | 200 μ M | 0,8 |
| Forward1 | 5 μ M | 0,25 μ M | 2 |
| Reverse | 5 μ M | 0,25 μ M | 2 |
| PCR-gradert H ₂ O | | 40 μ l | 24,8 |
| Iproof DNA polymerase | 2 U/ μ l | 0,02 U/ μ l | 0,4 |
| Templat | 5-100 ng/ μ l | 7,4-150 ng | 2 |
| Totalt | | | 40 |

Tabell 3: Programmet benyttet ved 16S rRNA amplifisering.

| Trinn | Tid (min) | Temperatur ($^{\circ}$ C) | Antall sykluser |
|-----------------------------------|-----------|----------------------------|-----------------|
| Aktivering | 00:30 | 98,0 | 1 x |
| Denaturering | 00:10 | 98,0 | |
| Annealing | 00:30 | 55,0 | 35 x |
| Elongering/polymerisering | 00:45 | 72,0 | |
| Endelig elongering/polymerisering | 10:00 | 72,0 | 1 x |
| Avkjøling | ∞ | 4,0 | |

3.6 Multi- og singelpleks PCR

For å undersøke om ESBL var til stede i bakterieisolatene ble det utført multipleks PCR med tre multipleks primermikser, som ble kalt ESBL 1-3. To multipleks primermikser som kunne identifisere eventuelle karbapenemaser ble også brukt, og disse ble kalt CAR 1-2. Hver av primermiksene inneholdt tre eller fire primerpar for å nå ulike målgen. Primerparene som ble benyttet vises i Tabell 4 og Tabell 5. For å preparere det ekstraherte DNAet til multi- og singelpleks PCR ble «QIAGEN® Multiplex PCR Kit» (Qiagen, Hilden, Tyskland) benyttet. Produsentens protokoll ble i stor grad fulgt, men mengden av komponentene i reaksjonsblandingen ble halvert da dette var mer økonomisk. 1 μ l DNA og 24 μ l

reaksjonsblanding ble derfor overført til PCR-rør og deretter amplifisert på en C1000 Touch™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc.). Tabell 7 viser programmet som ble benyttet til ESBL multipleks PCR og Tabell 8 viser programmet som ble benyttet til CAR multipleks PCR.

Etter amplifisering ble resultatet undersøkt ved hjelp av agarose gelelektroforese. Prøve 2, 3 og 4 ga positive resultater, og det ble derfor kjørt singelpleks PCR med primerpar og målgen til ESBL 2 for disse prøvene. Her ble også «QIAGEN® Multiplex PCR Kit» (Qiagen) benyttet, og protokollen ble fulgt med unntak av at reaksjonsblandingen ble halvert på samme måte som ved multipleks PCR. I tillegg ble 1,25 µl av forward og reverse primer for målgenene benyttet i stedet for primermiks. En C1000 Touch™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc.) ble benyttet med det samme programmet som for ESBL multipleks (se Tabell 7). Produktene fra singelpleks PCR ble også kjørt på agarosegel for å sikre at amplifiseringen var vellykket. De ble deretter rensset og sendt til sekvensering i hos Eurofins GATC i Konstanz, Tyskland.

Tabell 4: Viser primere, primersekvens, målgen, bp og regeranse for de tre ESBL multipleks.

| Primer | Primersekvens (5'-3') | Målgen | Basepar | Referanse |
|----------------|--|---------------------------------------|---------|--|
| ESBL 1 | | | | |
| MultiOxa48-F | GCTTGATCGCCCTCGATT | <i>bla_{OXA-48}</i> | 281 | (Dallenne, Da Costa, Decre, Favier & Arlet, 2010) (Dallenne et al., 2010) (Dallenne et al., 2010) (Dallenne et al., 2010) |
| MultiOxa48-R | GATTTGCTCCGTGGCCGAA | | | |
| MultiCTXMGp2-F | CGTTAACGGCACGATGAC CGATATCGTTGGTGGTTCCAT | <i>bla_{CTX-M}</i> (gr. 2) | 404 | |
| MultiCTXMGp2-R | GGCACCAGATTCAACTTTCAAG GACCCCAAGTTTCTGTAAAGTG | <i>bla_{OXA}</i> | 564 | |
| MultiTSOO-F | AGCCGCTTGAGCAAATTAAC | <i>bla_{SHV}</i> | 713 | |
| MultiTSOO-R | ATCCCGCAGATAAATCACCAC | | | |
| MultiTSOS-F | | | | |
| MultiTSOS-R | | | | |
| ESBL 2 | | | | |
| MultiCTXMGp9-F | TCAAGCCTGCCGATCTGGT TGATTCTCGCCGCTGAAG | <i>bla_{CTX-M}</i> (gr. 9) | 561 | (Dallenne et al., 2010) |
| MultiCTXMGp9-R | TTAGGAARTGTGCCGCTGYA CGATATCGTTGGTGGTRCCAT | <i>bla_{CTX-M}</i> (gr. 1) | 688 | (Dallenne et al., 2010) |
| MultiCTXMGp1-F | CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC | <i>bla_{TEM}</i> | 800 | (Dallenne et al., 2010) |
| MultiCTXMGp1-R | | | | |
| MultiSOT-F | | | | |
| MultiSOT-R | | | | |
| ESBL 3 | | | | |
| NDM-F | TGGCCCGCTCAAGGTATTTT | <i>bla_{NDM}</i> | 157 | (Finton, 2020) |
| NDM-R | GTAGTGCTCAGTGTCGGCAT | | | |
| VIM-F | ATAGAGCTCAGTGTGTCGGCAT | <i>bla_{VIM}</i> | 564 | (Finton, 2020) |
| VIM-R | TTATTGGTCTATTTGACCGCGT | | | |
| KPC-F | TCCGTTACGGCAAAAATGCG | <i>bla_{KPC}</i> | 460 | (Finton, 2020) |
| KPC-R | GCATAGTCATTTGCCGTGCC | | | |

Tabell 5: Viser primere, primersekvens, målgen, bp og regeranse for de to CAR multipleks.

| Primer | Primersekvens (5'-3') | Målgen | Basepar | Referanse |
|--------------|------------------------|-----------------------------|---------|-------------------------|
| CAR 1 | | | | |
| CMY2-F | GCATCTCCCAGCCTAATCCC | <i>bla_{CMY-2}</i> | 188 | (Finton, 2020) |
| CMY2-R | TTCTCCGGGACAACCTTGACG | | | |
| MultiOxa48-F | GCTTGATCGCCCTCGATT | <i>bla_{OXA-48}</i> | 281 | (Dallenne et al., 2010) |
| MultiOxa48-R | GATTTGCTCCGTGGCCGAA | | | |
| IMP-F | ACAGGGGGAATAGAGTGGCT | <i>bla_{IMP}</i> | 393 | (Finton, 2020) |
| IMP-R | AGCCTGTTCCCATGTACGTT | | | |
| MultiTSOO-F | GGCACCAGATTCAACTTTCAAG | <i>bla_{VIM}</i> | 564 | (Finton, 2020) |
| MultiTSOO-R | GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG | | | |
| CAR 2 | | | | |
| NDM-F | TGGCCCGCTCAAGGTATTTT | <i>bla_{NDM}</i> | 157 | (Finton, 2020) |
| NDM-R | GTAGTGCTCAGTGTCGGCAT | | | |
| SFC1-F | GGAGGGCGAATTGGGGTTTA | <i>bla_{SFC-1}</i> | 268 | (Finton, 2020) |
| SFC1-R | CACTGTACTGCAGAGTGGCA | | | |
| KPC-F | TCCGTTACGGCAAAAATGCG | <i>bla_{KPC}</i> | 460 | (Finton, 2020) |
| KPC-R | GCATAGTCATTTGCCGTGCC | | | |

Tabell 6: Komponentene benyttet til multi- og singelpleks PCR og deres volum. For singelpleks ble forward- og reverse-primere benyttet i stedet for primermiks.

| Komponent | Volum (µl) per reaksjon |
|--------------------------------------|-------------------------|
| Reaksjonsmiks: | |
| 2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix | 12,5 |
| 10x primer mix (2 µM av hver primer) | 2,5 |
| RNase-fritt vann | 9,0 |
| Templat | 1,0 |
| Totalt: | 25,0 |

Tabell 7: Programmet benyttet for ESBL multipleks PCR.

| Trinn | Tid (min) | Temperatur (°C) | Antall sykluser |
|-----------------------------------|-----------|-----------------|-----------------|
| Aktivering | 15:00 | 95,0 | 1 x |
| Denaturering | 00:30 | 94,0 | 28 x |
| Annealing | 01:30 | 62,0 | |
| Elongering/polymerisering | 01:30 | 72,0 | |
| Endelig elongering/polymerisering | 10:00 | 72,0 | 1 x |
| Avkjøling | ∞ | 4,0 | |

Tabell 8: Programmet benyttet ved PCR for CAR multipleks PCR.

| Trinn | Tid (min) | Temperatur (°C) | Antall sykluser |
|-----------------------------------|-----------|-----------------|-----------------|
| Aktivering | 15:00 | 95,0 | 1 x |
| Denaturering | 00:30 | 94,0 | 30 x |
| Annealing | 01:30 | 60,0 | |
| Elongering/polymerisering | 01:30 | 72,0 | |
| Endelig elongering/polymerisering | 10:00 | 72,0 | 1 x |
| Avkjøling | ∞ | 4,0 | |

3.7 Agarose gelelektroforese

For å se om PCR-amplifiseringen til 16S rRNA, multi- og singelpleks var vellykket ble PCR-produktene kjørt på agarosegel. Størrelsen på gelene som ble laget varierte avhengig av hvor mange PCR-produkter som skulle undersøkes. For å separere og identifisere båndene i gelen ble det brukt 1% agarosegel. For å lage liten gel ble 50 ml Tris-acetat-EDTA (TAE)-buffer (Bio-Rad Laboratories Inc.) og 0,5g SeaKem® LE Agarose (Lonza, Basel, Sveits) blandet i en Erlenmeyerkolbe. Kolben ble satt i mikrobølgeovn i 1,5 minutter på full styrke og deretter 0,5 minutt på 600 watt. Deretter ble kolben avkjølt på benken før 2,5 µl GelRed™ Nucleic Acid (Biotium Inc., Fremont, USA) ble tilsatt og gelen ble helt over i et utstøpningskar. For store geler ble samme prosedyre fulgt men det ble brukt 250 ml TAE-buffer (Bio-Rad Laboratories Inc.) og 2,5 g SeaKem® LE Agarose (Lonza), i tillegg til at gelen var plassert i 1,5 minutt i mikro både på full styrke og på 600 watt. Til slutt ble gelen tilsatt 12,5 µl GelRed™ Nucleic Acid (Biotium Inc.) før den ble helt over i et utstøpningskar.

Brønnskammene ble fjernet når gelen hadde blitt fast og gelene ble overført til «Mini-Sub® Cell Model GT System» (Bio-Rad Laboratories Inc.). For å gjøre PCR-produktet klar til gelelektroforese ble 3 µl av produktet blandet sammen med 3 µl Quick-Load 100 bp DNA ladder (New England BioLabs Inc., Ipswich, England) og 4 µl H₂O til en Greiner BioOne™ Non-treated 96-Well Microplate (Greiner BioOne™, Thermo Fisher Scientific Inc.). Komponentene ble blandet med en pipette og 10 µl fra hver av brønnene ble pipettert over til brønner i agarosegelen. Quick-Load 100 bp DNA ladder (New England BioLabs Inc., Ipswich, England) ble også tilsatt gelen før elektroforesen ble satt i gang. BioRad PowerPac 300 Electrophoresis Power Supply (Bio-Rad Laboratories Inc.) ble brukt som elektrisk kilde til elektroforesen og gelene ble kjørt på 80 volt. De små gelene ble kjørt i 30-60 minutter, mens de store gelene ble kjørt i 70-90 minutter.

Etter gelelektroforesen ble gelene tatt bilde av i en Molecular Imager® Gel Doc™ XR Image System (Bio-Rad Laboratories Inc.), og for å analysere bildene ble dataprogrammet Quantity One® 1-D Analysis Software v. 4.6.7 (Bio-Rad Laboratories Inc.) benyttet.

3.8 Rensing av PCR-produkter

Primerne som ble brukt under PCR-amplifisering ble fjernet med «GenElute™ PCR Clean-Up Kit» (Sigma-Aldrich®). Protokollen som fulgte med settet ble brukt, med unntak av ved det siste trinnet, der det ble tilsatt 25 µl Elution Solution (Sigma-Aldrich®) i stedet for 50 µl. Dette var for å få en høyere DNA-konsentrasjon. Etter rensingen ble innholdet av DNA kvantifisert med et Qubit 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific Inc.).

Produktene fra 16S rRNA PCR og ESB-2 singelpleks PCR skulle sendes til Eurofins GATC i Konstanz, Tyskland for sekvensering. Prøvene ble overført til 1,5 ml eppendorfrør merket med strekkode og et nummer. Dette ble gjort ved at 5 µl rensed DNA-produkt og 5 µl «forward»- eller «reverse»-primer ble overført til rørene. Sekvensene som koder for 16S rRNA er på cirka 1500 bp, og det var derfor nødvendig å sende ett rør med «forward»- og ett rør med «reverse» primer for å få med all nødvendig informasjon. Den samme prosedyren ble fulgt for produktene fra singelpleks PCR. På grunn av en mulig forveksling av prøve 3 og 4 i løpet av arbeidet ble hele metoden gjentatt for disse prøvene og de ble sendt til sekvensering hos Eurofins GATC i Konstanz, Tyskland på nytt.

3.9 Resultatbehandling av 16S rRNA PCR-produkter

Resultatene fra Sangersekvenseringen av 16S rRNA-produktene ble analysert ved å bruke programmet Nucleotide BLAST fra nettsidene til National Center for Biotechnology Information Search database (NCBI). Her ble «forward»- og «reverse»-sekvensene lagt inn og databasen «Reference RNA sequences» ble valgt før søket ble gjort.

Resultatene fra Sangersekvenseringen av singelpleks PCR-produktene ble også analysert ved hjelp av nettsidene til NCBI. Her ble programmet blastx benyttet for å identifisere eventuelle ESBL-enzymmer og databasen «Reference proteins» ble valgt.

3.10 Helgenomsekvensering med Illumina

For å detektere bakteriestammer og gener som kodet for ESBL ble prøve 3 og 4 ble helgenomsekvensert med Illumina. Stipendiat Misti Dawn Finton sendte prøvene inn til «The Norwegian High-Throughput Sequencing Centre» (Oslo, Norge). Her ble «Nextera™ 200 DNA Flex Tagmentation» (Illumina Inc., San Diego, USA) brukt til å preparere «paired-end»-biblioteker på 2 x 300 bp. «The Norwegian High-Throughput Sequencing Centre» sekvenserte deretter disse bibliotekene på en 201 Illumina Miseq plattform med en 2 x 300 «paired-end»-tilnærming med v3-kjemi.

Rådataene fra sekvenseringen ble behandlet av Prof. Bjørn-Arne Lindstedt. Resultatene fra sekvenseringen besto av flere tusen fragmenter på 300 bp. Filene med disse fragmentene ble lastet opp på en plattform kalt «Galaxy», der resten av trinnene ble utført. Programmet «Trimmomatic» (Bolger, Lohse & Usadel, 2014) ble kjørt for å rense vekk adaptore. Deretter ble «Shovill» brukt til å sette sammen de små fragmentene til mye lengere fragmenter. Dette programmet bygger på programmet «Spades» (Bankevich et al., 2012) Fragmentene ble så scannet med «The Comprehensive Antibiotic Resistance Database» (CARD), «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» (fra NCBI) og «The Virulence Factor Database» (VFDB). Dette ble også gjort fra «Galaxy» ved hjelp av verktøyet «ABRicate». «Multilocus sequence typing» ble utført på de isolatene det lot seg gjøre og serotyping ble utført ved «Center of Genomic Epidemiology». Isolatene ble identifisert ved «Ribosomal Multilocus Sequence Typing» (rMLST), da dette er mer nøyaktig en identifisering ved hjelp av 16S rRNA (Jolley et al., 2012). Til slutt ble programmet «PROKKA» (Seemann, 2014)

benyttet for å oversette filer som kun inneholder millioner av baser til filer som inneholder gener.

3.11 Antimikrobiell sensitivitetstesting

Det ble utført antimikrobiell sensitivitetstesting for å se hvilke antibiotika prøve 2, 3 og 4 var resistente mot. 12 vanlige antibiotika ble testet, og disse vises i Tabell 9. For å teste ble M.I.C. Evaluator (Oxoid), ETEST® (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Frankrike) eller MIC (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italia) gradient strips benyttet. Nedfrosede bakterieisolater fra prøve 2, 3 og 4 ble sådd ut på petriskåler med Mueller-Hinton (M-H) agar (Thermo Fisher Scientific Inc.) og ble inkubert over natten ved 37 °C. Etter inkuberingen ble kolonier plukket ut og overført til sterilt vann med 8% NaCl. Turbiditeten til løsningen ble sjekket opp mot en McFarland Standard 5.0 (Pro-Lab Diagnostics Inc., Bromborough, Storbritannia). Deretter ble prøvene strøket ut på nye M-H agarskåler med steril bomullspinne. En antimikrobiell strip ble plassert på agaren med en steril pinsett og skålene ble så inkubert ved 37 °C over natten. Deretter ble verdien til inhiberingssonene lest av og sammenlignet med MIC-brytningspunktverdiene listet hos EUCAST (2020). For å sikre at resultatene var korrekte ble testen gjennomført to ganger.

Tabell 9: Prøvene 2, 3 og 4 ble testet opp mot følgende antibiotika for å påvise resistens.





| Antibiotikaklasse | Antibiotika |
|-----------------------------|--|
| Aminopenicillin | Ampicillin Amoxicillin med klavulansyre |
| Kefalosporin | Cafotaksim Cefepim |
| Flurokinoloner | Ciprofloxacin |
| Aminoglykosid | Amikacin Gentamicin Streptomycin |
| Karbapenem | Imipenem Meropenem |
| Makrolid | Erytromycin |
| Sulfonamider og trimetoprim | Trimetoprim |

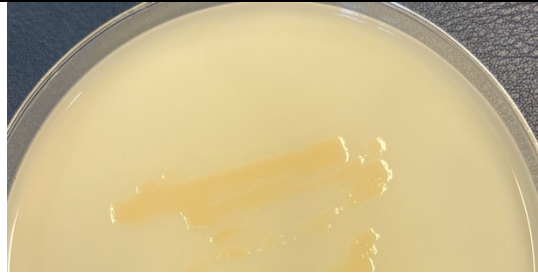
4 RESULTATER

4.1 Fenotypiske resultater

De innhentede vannprøvene ble finfiltrert og overført til *Brilliance*TM ESBL agarskåler, der de ble inkubert. Interessante kolonier ble rendyrket. Tabell 10 viser petriskålene med rendyrkede kolonier fra de filtrerte vannprøvene.

Tabell 10: Resultatene fra rendyrking av vannprøver på *Brilliance*TM ESBL agarskåler.

| Vannprøve og lokasjon | Skål | Fargereaksjon | Antagelse |
|-----------------------|---|-----------------|-------------------------|
| Prøve 1, S1 |  | Sjøgrønn/turkis | KESC-gruppen |
| Prøve 2, S1 |  | Brun | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| Prøve 3, S2 |  | Brun | <i>Pseudomonas</i> spp. |
| Prøve 4, S2 |  | Mørkeblå | <i>E. coli</i> |

| | | | |
|-------------|---|-----------|---|
| Prøve 5, S3 |  | Beige/gul | <i>Proteus</i> spp., <i>Morganella</i> spp. eller <i>Providencia</i> spp. |
|-------------|---|-----------|---|

De rendyrkede koloniene hadde ulike farger. Det ble observert mørkebrune, mørkeblå, turkise og beige kolonier på *Brilliance*TM *ESBL* agarskålene. Antagelser om hvilke bakterier som vokste på de ulike skålene ble gjort basert på koloniens farger.

4.2 Kvantifisering og renhetsmåling

Kvantifisering og renhetsmåling av DNA isolert fra de rendyrkede vannprøvene ble gjennomført med Qubit 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) og NanoDop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc.). Resultatene vises i Tabell 11.

Tabell 11: Konsentrasjon målt med Qubit 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) og absorbans målt med NanoDrop 2000 Spektrofotometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) til DNA isolert fra rendyrkede vannprøver.

| Prøve | Konsentrasjon (ng/μl) | A _{260/280} | A _{260/230} |
|-------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 79,7 | 2,01 | 2,07 |
| 2 | 143 | 1,90 | 1,97 |
| 3 | 650 | 1,83 | 1,89 |
| 4 | 44,1 | 1,84 | 1,59 |
| 5 | 39,3 | 1,90 | 1,70 |

Konsentrasjonen i de fem bakterieisolatene varierte forholdsvis mye (fra 39,3 ng/μl til 650 ng/μl). Bakterieisolatene hadde et A_{260/280} forhold på mellom 1,83 og 2,01. Dette tyder på at de er forholdsvis rene, da ønsket verdi er mellom 1,80 og 2,20. Forholdet A_{260/230} skulle helst ligge på rundt 1,80, og bakterieisolatenes verdier varierte fra 1,59 til 2,07.

4.3 Agarose gelelektroforese av multi- og singelpleks ESBL og CAR

Resultatene fra agarose gelelektroforesen som ble kjørt for ESBL 1-3 PCR-produktene vises i Vedlegg 1. Tabell 12 viser tolkningen av disse resultatene. Båndene på gelen ble vurdert i forhold til ladderens som ble brukt i gelen.

Tabell 12: Viser resultater fra PCR og gelelektroforese for ESBL 1-3 multipleks og kontroll. Positive DNA-bånd er markert med + og ingen DNA-bånd er markert med -.

| Prøve | ESBL 1 | | | | ESBL 2 | | | ESBL 3 | | |
|-------|--------|------------------|---------|-----|------------------|------------------|-----|--------|-----|-----|
| | OXA-48 | CTX-M (gr. 2) | OX A | SHV | CTX-M (gr. 9) | CTX-M (gr. 1) | TEM | NDM | VIM | KPC |
| 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| 3 | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Resultatene vist i Tabell 12 antyder at prøve 2, 3 og 4 hadde positive DNA-bånd i ESBL 2. Størrelsen på DNA-båndene sammenlignet med ladderens antydte at båndene kodet for *bla*_{CTX-M (gr. 9)} eller *bla*_{CTX-M (gr. 1)}. Det ble derfor kun kjørt singelpleks PCR med disse primerparene i ESBL 2. Tolkningen av resultatene fra singelpleks PCR (Vedlegg 1) vises i Tabell 13.

*Tabell 13: Viser resultater fra PCR og gelelektroforese etter singelpleks PCR med *bla*_{CTX-M (gr. 9)} og *bla*_{CTX-M (gr. 1)} som målgen. Positive DNA-bånd er markert med + og ingen DNA-bånd er markert med -.*

| Prøve | ESBL 2 | |
|-------|---------------|---------------|
| | CTX-M (gr. 9) | CTX-M (gr. 1) |
| 2 | + | - |
| 3 | + | - |
| 4 | - | + |

Resultatene fra singelpleks PCR som vises i Tabell 13 tydet på positive DNA-bånd for *bla*_{CTX-M} (gr. 9) i prøve 2 og 3. Det så også ut til at prøve 4 inneholdt positive DNA-bånd for *bla*_{CTX-M} (gr. 1). Prøve 3 og 4 ble helgenomsekvensert for å få funnene bekreftet.

Bilderresultatene fra agarose gelelektroforese som ble kjørt på produktene fra CAR 1-2 vises i Vedlegg 1. Tabell 14 viser tolkningen av disse resultatene.

Tabell 14: Viser resultater fra PCR og gelelektroforese for CAR 1-2 multipleks og kontroll. Positive DNA-bånd er markert med + og ingen DNA-bånd er markert med -.

| Prøve | CAR1 | | | | CAR2 | | |
|-------|------|--------|-----|-----|------|-------|-----|
| | CMY | OXA-48 | IMP | OXA | NDM | SFC-1 | KPC |
| 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | - | - | - | - | - | - | - |
| 3 | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | - | - | - |
| 5 | - | - | - | - | - | - | - |

Resultatene fra agarose gelelektroforesen kjørt på karbapenemase-produktene ga ingen positive DNA-bånd. Det ble derfor ikke utført singelpleks PCR for noen av disse genene.

4.4 Sanger-sekvensering

Etter Sanger-sekvensering av 16S rRNA i Tyskland ble sekvensene satt inn i BLAST for å finne bakterieidentitet. En tabell med resultatene fra BLAST vises i Vedlegg 2.

Sekvenseringen av prøve 1 var ikke vellykket og sekvensen kunne derfor ikke søkes opp i BLAST. Prøve 2 og 3 fikk relativt like resultater på bakterieidentitet og ser ut til å tilhøre bakterieslekten *Pseudomonas*. Prøve 5 ser også ut til å tilhøre denne slekten, mens prøve 4 ser ut til å tilhøre enten *Escherichia*- eller *Shigella*-slekten.

For å analysere resultatene fra Sangersekvensering av singelpleks PCR-produktene ble blastx benyttet. Prøve 2 og 3 ga ikke noe treff på spesifikke proteiner. Prøve 4 ga flere treff som tydet på at sekvensen kodet for en betalaktamase. Resultatene er presentert i tabell i Vedlegg 2.

4.5 Helgenomsekvensering med Illumina

Resultatene fra helgenomsekvenseringen viste at prøve 3 var en *Pseudomonas aeruginosa* ST207 med serotype O1, mens prøve 4 var en *Escherichia coli* ST1193 med serotype O75:K1:H5.

Resistensgener funnet ved helgenomsekvensering etter at lengre fragmenter av sekvensene til prøve 3 skannet med «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» ved NCBI vises i Tabell 15. Resultatene fra helgenomsekvenseringen ble også scannet med Prof. Bjørn-Arne Lindstedt sin egen database.

Tabell 15: Viktige resistensgener funnet etter genomet fra prøve 3 ble scannet med The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database (NCBI). Resistensgener funnet med Prof. Bjørn-Arne Lindstedts database er merket med *.

| Resistensgen | Identitet (%) | Kommentar | Accession no. |
|---------------------------------|---------------|---|----------------|
| <i>bla</i> _{OXA-395} * | 100,00 | Betalaktamase | WP_015649877.1 |
| <i>bla</i> _{PDC-30} * | 100,00 | Betalaktamase | WP_003110141.1 |
| <i>crpP</i> | 98,99 | Ciprofloxacinresistens | NG_062203.1 |
| <i>aph(3')-IIb</i> | 98,76 | Aminoglykosid O-fosfotransferase (kanamycinresistens) | NG_047424.1 |
| <i>catB7</i> | 98,12 | Kloramfenikol O-acetyltransferase (kloramfenikolresistens) | NG_047614.1 |
| <i>fosA-354827590</i> | 99,27 | Fosfomycinresistens | NG_047883.1 |

Tabell 15 viser at prøve 3 hadde *bla*_{OXA-395} og *bla*_{PDC-30}, som begge koder for betalaktamaser. Prøven hadde også *crpP*, som man tror gir resistens mot ciprofloxacin gjennom fosforylering av antibiotikumet (Chávez-Jacobo et al., 2019). *aph(3')-IIb* gir resistens mot flere aminoglykosider og det er sannsynlig at genproduktet fungerer som et metabolsk enzym med kryssreaktivitet med denne antibiotikagruppen (Zeng & Jin, 2003). Prøve 3 inneholdt også *catB7*, som acetylerer kloramfenikol (White, Stokes, Bunny & Hall, 1999).

Tabell 16 viser resultatene fra helgenomsekvenseringen etter at lengre fragmenter av sekvensene til prøve 4 ble skannet med «The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database» ved NCBI.

Tabell 16: Viktige resistensgener funnet etter at genomet fra prøve 4 ble scannet med The Bacterial Antimicrobial Resistance Reference Gene Database (NCBI).

| Resistensgen | Identitet (%) | Kommentar | Accession no. |
|--------------------------------|---------------|--|---------------|
| <i>bla</i> _{EC-5} | 99,82 | Betalaktamase | NG_049085.1 |
| <i>bla</i> _{CTX-M-15} | 100,00 | Betalaktamase med utvidet spektrum | NG_048935.1 |
| <i>tet</i> (B) | 100,00 | Tetrasyklinresistens | NG_048163.1 |
| <i>erm</i> (B) | 99,86 | 23S rRNA metyltransferase (makrolidresistens) | NG_047804.1 |
| <i>mph</i> (A) | 98,71 | Makrolid 2' fosfotransferase (makrolidresistens) | NG_047986.1 |
| <i>dfr</i> -A17 | 99,79 | Dihydrofolat-reduktase (trimetoprimresistens) | NG_047710.1 |

Tabell 16 viser at prøve 4 inneholdt to gener som kodet for betalaktamaser, *bla*_{EC-5} og *bla*_{CTX-M} (gruppe 15). Sistnevnte koder for betalaktamaser med utvidet spektrum og er svært vanlig i *E. coli* (Irrgang et al., 2017). Prøven inneholdt også *tet*(B) som kan gi tetrasyklinresistens, *erm*(B) og *mph*(A) som kan gi makrolidresistens, samt *dfr*-A17 som kan gi resistens mot trimetoprim.

Virulensgener funnet etter at resultatene fra helgenomsekvenseringen ble skannet med Prof. Bjørn-Arne Lindstedt sin egen upubliserte nBLAST søke-«pipeline» vises i Tabell 17 for prøve 3 og Tabell 18 for prøve 4.

Tabell 17: Viktige gener funnet etter at prøve 3 ble scannet med Prof. Bjørn-Arne Lindstedt sin egen nBLAST søke-«pipeline» (ikke publisert).

| Virulensgen | Identitet (%) | Kommentar | Accession no. |
|-------------|---------------|---|---------------|
| fptA | 99,31 | Reseptor som bidrar til jerntransport hos <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | PAU03161 |
| lasB | 98,46 | Undertrykker alveolære makrofager | CP029090 |
| ndvB | 99,31 | Koder for enzym som katalyserer glukaner som fremmer aminoglykosidresistens | CGFY01000068 |
| pfeA | 99,51 | Enterobactinreseptor | NC_002516 |
| toxA | 99,27 | Hemmer proteinbiosyntese, som fører til skade på organer og vev | CP006832 |

FptA er en reseptor for jernsideroforen pyochelin (Elfarash et al., 2014). *lasB* koder for LasB elastase, som er en viktig virulensfaktor. Genet kontrolleres av et *Pseudomonas* kinolon-signal (Pesci et al., 1999). Bakterier som vokser i biofilm er mer antibiotikaresistent enn bakterier som vokser fritt. *ndvB* er viktig for dannelse av periplasmiske glukaner som bidrar til biofilm-spesifikk AR (Beaudoin, Zhang, Hinz, Parr & Mah, 2012). *pfeA* koder for en enterobactinreseptor (Dean, Neshat & Poole, 1996). *toxA* koder for produksjonen av eksotoksin A. Eksotoksin A er en viktig virulensfaktor i *P. aeruginosa* og hemmer protein biosyntesen og fører til skade på organer og vev (Dong et al., 2015).

Tabell 18: Viktige gener funnet etter at prøve 4 ble scannet med Prof. Bjørn-Arne Lindstedt sin egen nBLAST søke-«pipeline» (ikke publisert).

| Virulensgen | Identitet (%) | Kommentar | Accession no. |
|---|---------------|--|-----------------|
| antigen-43 | 99,43 | Adhesin assosiert med celleaggregering og dannelse av biofilm i <i>E. coli</i> | NZ_ANXM01000041 |
| antigen-43 | 96,3 | | NZ_BGJU01000062 |
| c0426/upaB | 98,07 | Autotransportør som bidrar til UPEC-kolonisering i urinveiene | AE014075 |
| c0478/upaC | 99,93 | Autotransportøradhesin fra UPEC-stamme CFT073 | AE014075 |
| ChuA | 99,5 | Heminreseptor i yttermembranen | LT827011 |
| <i>bla</i> _{CTX-M} (gruppe 15) | 100,00 | Betalaktamase med utvidet spektrum | KF055402 |
| ehaC | 96,24 | EHEC autotransportør C | BA000007 |
| fdeC | 99,65 | Kan mediere adhesjon av <i>E. coli</i> til celler fra pattedyr og ekstracellulær matriks | CP019777 |
| fyuA | 99,75 | Reseptor for opptak av yersiniabactin med jern | CP016828 |
| gipA | 99,91 | Bidrar til at AIEC kan overleve og replikere i makrofager | NC_017634 |
| iha | 99,75 | Homologt adhesin som fungerer som virulensfaktor i murin UVIer. | CP018957 |

| | | | |
|------|--------|--|---|
| irp1 | 99,27 | Yersiniabactin biosyntetisk protein | CU928163 |
| irp2 | 98,87 | Yersiniabactin biosyntetisk protein, involvert i patogenesen av infeksjoner forårsaket av APEC | CP006834 |
| iucA | 99,44 | Del av aerobactinoperon | CU928163 |
| iucB | 99,40 | | AE014075 |
| iucC | 98,16 | | AE014075 |
| iucD | 98,84 | | CP001232 |
| iutA | 99,95 | | CP011134 |
| kpsC | 96,75 | | Gener involvert i biosyntese av <i>E. coli</i> K kapselpolysakkaridet |
| kpsD | 99,05 | NC_007946 | |
| kpsS | 97,01 | CP006632 | |
| malX | 98,61 | Koder for fosfotransferasesystem-enzym II som gjenkjenner maltose og glukose | AF003742 |
| neuB | 100,00 | Sialinsyre-syntase, K1 kapselgen | NC_011750 |
| neuC | 100,00 | UDP N-acetylglucosamin 2-Epimerase, K1 kapselgen | CP003034 |
| papA | 100,00 | <i>E.coli</i> -stammer som fører til UVI produserer pap-pili som består av subenheter av papA | AP018784 |
| papI | 99,57 | Pap-operon regulatorisk protein | CU928164 |

| | | | |
|------|-------|--|-----------------|
| papX | 97,46 | Mobilitetshemmer i UPEC | CP025251_ |
| sat | 99,92 | Autotransportør-toksin | HG941718 |
| sinH | 98,07 | Intimin-lik invers autotransportør | NZ_NMHI01000013 |
| sitA | 97,16 | SitABCS representerer en mangan- og jern-transportør | FQ482074 |
| sitB | 98,67 | | NC_017659 |
| sitC | 98,95 | | CP000836 |
| sitD | 97,09 | | UGFR01000001 |
| usp | 99,55 | Uropatogent spesifikt protein | CU651637 |
| vat | 99,72 | Bidrar til UPEC-fitness | KR094926 |
| yfcV | 97,18 | Kan brukes til å skille UPEC-stammer fra kommensale og DEC-stammer | NC_011750 |

Tabell 18 viser at det ble funnet to typer av antigen-43 i prøve 4. Antigen-43 ligger i yttermembranen hos *E. coli* og har en rolle i autoaggregering av celler. Man tror også at genet er innblandet i adhesjon og dannelse av biofilm (Roche, McFadden & Owen, 2001). *upaB* og *upaC* er begge relatert til UPEC, som er hovedårsaken til UVI i dag. De koder begge for proteiner som er lokalisert på celleoverflaten, men har ulike funksjoner. *upaB* medierer binding til flere ekstracellulære matriksproteiner (ECM-proteiner) mens *upaC* er assosiert med dannelse av biofilm (Allsopp et al., 2012). De fire virulensgenene *chuA*, *vat*, *fyuA* og *yfcV* er sterkt assosiert med UPEC, og *E. coli*-isolater som inneholder disse fire genene er korrelert med et høyt antall andre virulensfaktorer (Spurbeck et al., 2012). *ehaC* er assosiert med dannelse av biofilm i EHEC-stammer (Abreu et al., 2013). FdeC kan mediere adhesjon av *E. coli* til celler hos pattedyr og ekstracellulær matriks, og er viktig for kolonisering av blære og nyrer (Nesta et al., 2012). *gipA* er nødvendig for optimal kolonisering av «adherent-invasive» *E. coli* (AIEC) i tynntarm hos mus og for overlevelse i makrofager (Vazeille et al., 2016). *iha* koder for yttermembranproteinet Iha og finnes ofte i uropatogene *E. coli*-stammer. (J. R. Johnson et al., 2005). *irp1* og *irp2* er begge jernregulatoriske proteiner og er involvert i syntesen av sideroforen yersiniabactin (Souza Lopes et al., 2016). *iucA*, *iucB*, *iucC*, *iucD* og

iutA er alle deler av aerobactinoperonet (De Lorenzo, Bindereif, Paw & Neilands, 1986). Aerobactin er nødvendig for *E. coli*s opptak av jern i jernfattig miljø, som i urinveiene (Meyrier, 1999). *kpsC*, *kpsD* og *kpsS* er alle nødvendige proteiner for at *E. coli* kan danne K1-kapsel (Rigg, Barrett & Roberts, 1998). *malX* koder for et fosfotransferasesystem-enzym II som er overrepresentert i stammer som fører til ekstraintestinale infeksjoner (Ostblom, Adlerberth, Wold & Nowrouzian, 2011). Genproduktet fra *neuB* og *neuC* er nødvendig for syntese av sialinsyre (Ganguli et al., 1994). Disse genene er i likhet med *kps*-genene essensielle for dannelse av K1-kapsel (Vann et al., 2004). *pap*-operonet er involvert i dannelse av fimbrier på overflaten av bakterier. Fimbrier er en viktig virulensmarkør hos exPEC. *papA* koder for en subenhet av fimbriene, mens *papI* koder for et protein som er involvert i regulering av miljøet og fasevariasjon i uttrykking av fimbriene (Kariyawasam & Nolan, 2011). PapX er en mobilitetsinhibitor i UPEC (Simms & Mobley, 2008). *Sat*, som kan uttrykkes av *sat* i UPEC, bidrar til UVI ved at proteinet fremkaller skade på nyren (Guyer, Radulovic, Jones & Mobley, 2002). *sinH* er en virulensfaktor i *Salmonella* og koder for et intimin-lik autotransportørprotein (Heinz et al., 2016). I *E. coli* representerer SitABCD en transportør av mangan og jern som kan bidra til tilegning av disse stoffene og reduksjon av oksidativt stress (Sabri, Leveille & Dozois, 2006). *Usp* er assosiert med *E. coli*-stammer som kan gi nyrebekkenbetennelse, betennelse i prostata og forekomst av bakterier i blodet. Proteinene er også assosiert med økt virulens og fitness i patogene *E. coli*-stammer (Črnigoj, Podlesek, Budič & Žgur-Bertok, 2014).

Et søk med verktøyet «ResFinder» i NCBI viste at prøve 4 hadde mutasjoner i genene *gyrA*, *parC* og *parE*. Mutasjoner på tre spesifikke posisjoner i *gyrA* og *parC* gir fluorokinolonresistens (Tchesnokova et al., 2019).

4.6 Testing med antibiotikastrips

Gjennomsnittsverdiene til inhiberingssonene etter to runder med antibiotikastrip-testing for prøve 2, 3 og 4 vises i Tabell 19. Her vises også EUCAST sine verdier for klinisk brytningspunkt for MIC. Prøve 2 og 3 sammenlignes med EUCAST sine verdier for *Pseudomonas*, mens prøve 4 sammenlignes med verdiene for *Enterobacterales*. Bilder av skålene med inhiberingssoner vises i Vedlegg 4.

Tabell 19: Gjennomsnittresultater etter to runder med antibiotikastrip-testing sammenlignet med EUCAST sine verdier for klinisk brytningspunkt for MIC.

| Antibiotikaklasse | Antibiotikum | EUCAST | Prøve 2 | Prøve 3 | EUCAST | Prøve 4 |
|---------------------------|-------------------------------|--------|---------|---------|--------|---------|
| Penicillin | Ampicillin | - | ≥ 256 | ≥ 256 | 8 | ≥ 256 |
| | Amoxicillin med klauvulansyre | - | ≥ 256 | ≥ 256 | 8 | 14 |
| Kefalosporin | Cefotaksim | - | ≥ 32 | ≥ 32 | 2 | ≥ 32 |
| | Cefepim | 8 | 1,75 | 1,5 | 4 | 40 |
| Fluorokinolon | Ciprofloxacin | 0,5 | 0,094 | 0,064 | 0,5 | ≥ 32 |
| Aminoglykosid | Gentamicin | IE | 1,25 | 2,5 | 2 | 2 |
| | Streptomycin | - | 36 | 32 | - | 7 |
| | Amikacin | 16 | 2,5 | 3,5 | 8 | 3,5 |
| Karbapenem | Meropenem | 8 | 0,094 | 0,094 | 8 | 0,086 |
| | Imipenem | 4 | 2,25 | 1,5 | 4 | 0,188 |
| Makrolid | Erytromycin | - | ≥ 256 | ≥ 256 | - | ≥ 256 |
| Sulfonamid og trimetoprim | Trimetoprim | - | ≥ 32 | ≥ 32 | 4 | ≥ 32 |

Tabell 15 viser at prøve 2 og 3 hadde forholdsvis like inhiberingssoner. Flere antibiotika hadde ikke noen verdi for klinisk brytningspunkt oppgitt av EUCAST for *Pseudomonas*. Gitt de høye verdiene for inhiberingssoner vil det allikevel være sannsynlig at begge prøvene er resistente mot ampicillin, amoxicillin med klauvulansyre, cefotaxin, streptomycin, erytromycin og trimetoprim. Prøve 4 var resistent mot ampicillin, amoxicillin med klauvulansyre, cefotaksim, cefepim, ciprofloxacin, erytromycin og trimetoprim.

5 DISKUSJON

5.1 Fenotypisk resistenspåvisning

«Oxoid *Brilliance*TM ESBL»-agar brukes til deteksjon av ESBL-produserende organismer og kan gi hurtig deteksjon da man kan overføre kliniske prøver direkte til mediet (Thermo Fisher Scientific Inc., 2010a). Agaren ble i denne oppgaven brukt til å detektere ESBL i bakterier

funnet i vann på NMBU. På skålene vokste det frem fem rene bakterieisolater, og disse resultatene tydet på at ESBL-produserende *E. coli* eller bakterier i KESC-gruppen var til stede i vannprøvene. Tilstedeværelsen av ESBL-produserende patogener øker i hele verden, og infeksjoner forårsaket av disse organismene assosieres med høyere dødelighet enn infeksjoner forårsaket av organismer som ikke har ESBL (Bindayna, Senok & Jamsheer, 2009). Med denne kunnskapen kan funnene fra vannprøvene vekke bekymring, selv om AR i Norge er forholdsvis lav sammenlignet med andre land (Steinbakk et al., 2014).

Selv om «Oxoid *Brilliance*TM ESBL»-agar selekterer for *E. coli* og bakterier i KESC-gruppen er det ikke mulig å identifisere bakteriearten kun basert på de fenotypiske egenskapene. Det er heller ikke mulig å vite hvilke resistensgener som gir utslag. Tidligere forsøk har vist at skålene også kan gi utslag på andre bakteriefamilier og på bakterier uten ESBL. En økning i diversiteten av ESBL sammen med uttrykking av mange ulike resistensmekanismer har ført til et overlapp av ulike resistensfenotyper, og dette gjør det også vanskeligere å identifisere ESBL-produserende bakterier (Huang et al., 2010). For å finne ut hvilken bakterieart de ulike isolatene var ble prøvene sekvensert. «Oxoid *Brilliance*TM ESBL» er laget for å identifisere isolater fra kliniske prøver og ikke prøver fra miljøet. Gramnegative bakterier som lever i utfordrende miljøer med mye eksterne toksiner og varierende osmotisk trykk er vanligvis mindre permeable enn *Enterobacteriaceae* som lever i relativt beskyttede miljø i tarmkanalen hos pattedyr. *Enterobacteriaceae* vil da være mer mottakelige for giftstoffer enn miljøbakteriene (Iredell et al., 2016). Fordi miljøbakteriene er mer robuste kan disse derfor fortsatt vokse på medier som er laget for *Enterobacteriaceae*-bakterier, og dette kan gi utslag på «Oxoid *Brilliance*TM ESBL».

5.2 Sekvensering av 16S rRNA

Sekvensering av 16S rRNA ble i denne oppgaven benyttet til å bekrefte hvilke bakteriearter som vokste på «Oxoid *Brilliance*TM ESBL». Sekvensering av dette genet benyttes ofte til identifisering av bakterieart. Årsaken til dette er at 16S rRNA er godt konservert og er stort nok til at det ofte er mulig å skille mellom ulike slekter/arter kun basert på dette genet. Det er allikevel ikke alle arter man kan skille mellom, spesielt hvis man har lite DNA i prøvene, og dette kan komme av at mange arter deler veldig like sekvenser. I tillegg kan det være mangel

på sekvenser i databasen som fører til at den ukjente bakterien ikke kan identifiseres (Janda & Abbott, 2007).

Prøve 1 hadde kun en DNA-konsentrasjon på 20,9 ng/ml før sekvenseringen. Dette kan være årsaken til at resultatene fra sekvenseringen ga forward- og reverse-sekvenser på kun 18 bp hver. Prøve 1 ga derfor ikke noen resultater når disse sekvensene ble søkt opp i BLAST. De andre prøvene hadde en DNA-konsentrasjon på godt over 20 ng/ml og «query»-lengdene varierte fra 509 til 1140 bp. Prøve 2 ga ingen signifikante resultater, noe som kan komme av at sekvensen kun var 509 bp lang. Dersom sekvensen er for kort vil man ha for lite informasjon til å finne hvilken art bakterieprøven tilhører. I denne oppgaven er det kun resultater med sekvenslikhet på mellom 99,0 og 100,0% som er vurdert. Resultatet fra BLAST viste at prøve 3 var en *P. aeruginosa*. Sanger-sekvenseringen kunne ikke skille mellom *Escherichia fergusonii*, *Shigella flexneri* og *Shigella sonnei* i denne oppgaven, og dette kan komme av at det ikke finnes en sekvens for bakteriestammen i BLAST. I tillegg er *Escherichia* spp. og *Shigella* spp. nært relatert og tilhører begge *Enterobacteriaceae*-familien. De har mange fenotypiske likheter som kan gjøre det vanskelig å skille de fra hverandre, men har ulikheter når det gjelder epidemiologi og klinisk sykdom (Devanga Ragupathi, Muthuirulandi Sethuvel, Inbanathan & Veeraraghavan, 2018). Dette kan også være en årsak til at Sangersekvenseringen ikke kunne skille mellom *E. fergusonii* og *Shigella* spp.. Prøve 5 ble bestemt til å være *Pseudomonas* spp., men art kunne ikke determineres ut fra sekvensen gitt av Sangersekvenseringen.

5.2.1 Sammenligning av resultater fra 16S rRNA-sekvensering og kromogene skåler

Det var kun resultatene fra Sangersekvensering av prøve 3 som stemte overens med resultatene fra de kromogene skålene. Fenotypen til *Pseudomonas* spp. på «Oxoid Brilliance™ ESBL» er ikke oppgitt i produsentens protokoll, men Huang et al. (2010) rapporterte at isolater fra denne bakterieslekten kan fremstå som fargeløse, halm- eller brunfargede, og at isolater av *Pseudomonas* spp. er den mest observerte bakterien på «Oxoid Brilliance™ ESBL» når man ser bort fra *Enterobacteriaceae*. Det er forventet å finne *Pseudomonas* spp. på disse kromogene skålene da koloniene er naturlig pigmenterte og sprer seg uregelmessig, i tillegg til at de har oksidasepositiv karakter (Huang et al., 2010). «Oxoid Brilliance™ ESBL» er laget for identifisering av *E. coli* og KESC-gruppen fra kliniske prøver

og vekst av andre bakteriegrupper enn disse kan bidra til avvik fra protokollen. Det er også lett å feiltolke resultatene fra fargescreeningen.

Protokollen til Thermo Fisher Scientific Inc. (2010a) antydte at prøve 5, som hadde gule/beige kolonier, ville være *Proteus spp.*, *Morganella spp.* eller *Providencia spp.*. Dette stemte ikke overens med resultatet fra 16S rRNA Sangersekvenseringen, som oppga at bakterieisolatet i prøve 5 var en *Pseudomonas spp.*. Fargen på koloniene stemmer imidlertid godt overens med observasjonene til Huang et al. (2010), som observerte halm-fargede kolonier av *P. aeruginosa*. Dette viser hvor lett feiltolking kan skje ved fenotypisk testing og viktigheten av å bekrefte resultatene ved for eksempel Sangersekvensering. *P. aeruginosa* er en av hovedårsakene til dødsfall hos pasienter med CF og individer med nedsatt immunforsvar. Bakterien kan tilegne seg resistens mot mange av de tilgjengelig antibiotika og dette gjør det svært vanskelig å behandle infeksjoner forårsaket av denne bakteriearten. *P. aeruginosa* er oppført av WHO som en av tre bakteriearter der det er kritisk med utvikling av nye antibiotika for å behandle infeksjoner (Pang et al., 2019).

Prøve 4 ble basert på fenotypen antatt å være en *E. coli*, men Sangersekvenseringen viste at det mest sannsynlig var en *E. fergusonii*, *S. flexneri* eller *S. sonnei*. Sturød, Dahle, Berg, Steinbakk og Wester (2014) har observert at *S. sonnei* kan produsere kolonier med samme blåfarge som observert fra prøve 4. Arter innenfor *Shigella*-slekten var tidligere mottakelige for ampicillin, kloramfenikol, trimetoprim og nalidiksinsyre, men har nå utviklet resistens mot fluorokinoloner, kefalosporiner og azitromycin. Bakterier innenfor *Shigella*-slekten er årsaken til Shigellose, som fører til over 700 000 dødsfall i verden årlig (Puzari, Sharma & Chetia, 2018).

5.3 Påvisning av antibiotikaresistente gen ved Sangersekvensering og agarose gelelektroforese

For å identifisere viktige ESBL-kodende gener og karbapenemaser ble tre fem primermikser (ESBL 1-3 og CAR 1-2) valgt ut basert på klinisk relevans. Etter multipleks PCR ga prøve 2, 3 og 4 positive resultater for *bla*_{CTX-M (gr. 1)} og *bla*_{CTX-M (gr. 9)}. Det ble derfor kjørt singelpleks PCR for disse tre prøvene med *bla*_{CTX-M (gr. 1)} og *bla*_{CTX-M (gr. 9)} som målgen. Prøve 2 og 3 hadde hvert sitt DNA-bånd som kodet for *bla*_{CTX-M (gr. 9)}, mens prøve 4 hadde et DNA-bånd som kodet for *bla*_{CTX-M (gr. 1)}. Det ble ikke detektert noe DNA-bånd fra prøve 1 og 5.

For å bekrefte funnene fra agarose gelelektroforesen ble resistensgenene funnet i prøve 2, 3 og 4 Sangersekvensert. Ved å søke opp sekvensene i BLAST skulle det være mulig å finne ut hvilke proteiner disse resistensgenene kodet opp. Prøve 2 og 3 ga ingen resultater i BLAST. For prøve 2 kan årsaken til dette være at konsentrasjonen til prøven når den ble sendt inn til Sangersekvensering kun var på 3,89 ng/ml. Konsentrasjonen til prøve 3 var på 45,4 ng/ml, og det er derfor lite sannsynlig at konsentrasjonen var årsaken til at sekvenseringen ikke ga noen resistensgener fra denne prøven. «Query»-lengden på «forward»- og «reverse»-sekvensene var i tillegg henholdsvis 778 og 766 bp lange. Det er derfor vanskelig å si hvorfor BLAST-søket ikke ga noen resultater. Et søk på sekvensene for resistensgenene til prøve 4 i BLAST ga fire resultater med 100% identitetsscore. De tre første resultatene tilsa at genet kodet for en klasse A betalaktamase for *Klebsiella variicola*, *Serratia marcescens* eller *Klebsiella pneumoniae*. Det siste resultatet tilsa at genet kodet for en CTX-M i *E. coli*.

5.4 Påvisning av bakteriestammer, antibiotikaresistente gen og virulensgen ved helgenomsekvensering

5.4.1 Kategorisering av bakteriestammene i prøvene

Resultatene fra helgenomsekvenseringen ble lastet opp på en plattform kalt «Galaxy», der adaptore ble rensset vekk og de små fragmentene på 300 bp ble satt sammen til lenger fragmenter, som så ble scannet. Prøve 3 viste seg å være en *P. aeruginosa* ST207 av serotype O1. Dette stemmer godt overens med de fenotypiske resultatene fra «Oxoid Brilliance™ ESBLE» og resultatene fra Sangersekvenseringen, som begge tilsa at det ville være en *P. aeruginosa*. Isolering av kliniske stammer av *P. aeruginosa* som er resistente mot mange antibiotikaklasser, inkludert betalaktamer, aminoglykosider og fluorokinoloner, er svært vanlig. En økning av stammer som er resistente mot tredje- og fjerdegenerasjons kefalosporiner og karbapenemer har imidlertid blitt et alvorlig problem over hele verden (Laudy et al., 2017). Stammetyper som ble funnet ved hjelp av helgenomsekvenseringen ble først funnet i Canada i 1997 og har stort sett blitt isolert fra mennesker. Det eneste dokumenterte funnet av bakterien i miljø er fra 2012, da bakterien ble funnet i vann i Frankrike (Lindstedt, 2020). Funnet av denne bakterien i Niagarabekken på NMBU kan derfor anses som oppsiktsvekkende.

Prøve 4 ble etter helgenomsekvenseringen bestemt til å være en *E. coli* ST1193 med serotype O75:K1:H5. Denne sekvenstypen av *E. coli* har fluorokinolonresistens og har vært årsak til ekstraintestinal sykdom hos mennesker. ExPEC kan være dødelig for mennesker, og økt virulens på ExPEC-stammer gjør at disse bakteriene kan føre til flere ulike ekstraintestinale sykdommer (T. J. Johnson et al., 2019). Bakterieisolatet som ble funnet i denne oppgaven hadde ikke kun resistens mot fluorokinoloner, men hadde også plukket opp *bla*_{CTX-M-15}. *E. coli*. ST1193 har blitt funnet hos mennesker over hele verden, og har vist pandemisk spredning (Tchesnokova et al., 2019). De fleste isolater av denne sekvenstypen kommer fra urogenitale områder, men den kan også føre til hjernehinnebetennelse hos småbarn (T. J. Johnson et al., 2019). Utviklingen bakterieisolatet fra denne oppgaven viser, med gen kodende for ESBL i tillegg til fluorokinolonresistens kan vekke bekymring. I tillegg til dette ble bakterien oppdaget i miljøet, og disse faktorene gjør dette til et meget interessant funn.

5.4.2 Antibiotikaresistente gener i prøvene

Mennesker og dyr er ofte kilde til at antibiotikaresistente organismer havner i vannmiljøer. Bakteriene kan så spre genene sine til bakterier som stammer fra vannmiljøer slik at disse også opparbeider seg resistens (Baquero, Martinez & Canton, 2008). Etter flere tiår med høyt bruk av antibiotika er antimikrobielle stoffer, ARB og ARG utbredt. En kilde til disse kontaminantene er avløpsvann, og i land der fasiliteter til å behandle avfall ikke eksisterer eller ikke fungerer optimalt slippes de ut i miljøet der ARB og ARG spres videre (World Health Organization, 2015). Det er estimert at opptil 90% av avløpsvann slippes ut i elver, innsjøer eller hav ubehandlet (Corcoran et al., 2010). I denne oppgaven var det kun ARB og deres ARG som ble undersøkt, og vannet ble ikke undersøkt for antibiotika eller andre antimikrobielle stoffer. Flere viktige gener ble funnet, inkludert *bla*_{OXA}, *bla*_{PDC} og *bla*_{EC} (betalaktamaser), *bla*_{CTX-M} (ESBL), *tet*(B) (tetrasyklinresistens), *crpP* (ciprofloxacinresistens), *erm*(B) og *mph*(A) (makrolidresistens).

5.4.2.1 OXA (betalaktamase)

OXA er en klasse D betalaktamase, og var en av de første gruppene av betalaktamaser som ble oppdaget. Til å begynne med ga de kun resistens mot penicillin, men bakterier med *bla*_{OXA} kan nå inneha resistens mot kefalosporiner og karbapenemer i tillegg. *bla*_{OXA} som kunne gi resistens mot karbapenemer ble til å begynne med oppdaget i *Acinetobacter baumannii*, men

finnes nå også i andre bakteriearter og er en viktig årsak til karbapenemresistens. (Evans & Amyes, 2014). Genene for OXA er ofte lokalisert på plasmid, transposon eller integronet i en bakterie (Aubert, Poirel, Ali, Goldstein & Nordmann, 2001). I denne oppgaven ble *bla*_{OXA-395} funnet i *P. aeruginosa*. Dette genet er en variant av *bla*_{OXA-50} som ofte finnes i *P. aeruginosa*. *bla*_{OXA-50} gir bakterien lavere sensitivitet mot ampicillin og ticarcillin. I *P. aeruginosa* gir genet også redusert mottakelighet for moxalaktam og meropenem (Girlich, Naas & Nordmann, 2004).

5.4.2.2 PDC (betalaktamase)

*bla*_{PDC} koder for en variant av betalaktamasen AmpC som stammer fra *P. aeruginosa*. AmpC-betalaktamaser er ofte årsaken til høy resistens mot betalaktamaser i *P. aeruginosa*, og produksjonen av disse kan induseres eller undertrykkes for å regulere resistens mot penicillin og kefalosporin (Cho, Kwon, Kim & Koo, 2015; Upadhyay, Mishra, Sen, Banerjee & Bhattacharjee, 2013). Produksjonen av plasmidmediert AmpC sammen med kromosomale kefalosporinaser skaper stor bekymring på grunn av sin høye resistens (Upadhyay et al., 2013). En studie utført av Upadhyay et al. (2013) viste at 65% av *P. aeruginosa*-isolater inneholdt *AmpC*, der de fleste positive isolatene var hentet fra pasienter på sykehus. Det har også blitt rapportert funn av PDC i *P. aeruginosa* med utvidet spektrum kefalosporinaseaktivitet (Rodriguez-Martinez, Poirel & Nordmann, 2009). En studie fra Korea viste at seks varianter av PDC ble identifisert i alle de karbapenemresistente isolatene av *P. aeruginosa* (Cho et al., 2015). Med tanke på disse tidligere observasjonene er funnet av *P. aeruginosa* med *bla*_{PDC} i vannmiljø på NMBU ikke spesielt overraskende.

5.4.2.3 *crpP* (ciprofloxacinresistens)

crpP er et ciprofloxacin-modifiserende gen og ble nylig identifisert i et plasmid isolert fra et klinisk *P. aeruginosa*-isolat. Ciprofloxacin er et antibiotikum i fluorokinolonklassen og er aktivt mot infeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa*, men svært mange isolater av denne bakteriearten er nå resistent mot ciprofloxacin. *crpP* induserer fosforylering av antibiotikumet. Botelho, Grosso og Peixe (2020) har vist at spredning av *crpP*-genet mellom urelaterte stammer av *P. aeruginosa* hovedsakelig kommer av at genet ligger ved integrative og konjugative elementer (ICEs). Homologe *crpP*-gener har også blitt funnet i kliniske isolater av *E. coli* og *Klebsiella pneumoniae* (Botelho et al., 2020). *crpP* ble i denne oppgaven

funnet i *P. aeruginosa* fra Niagarabekken på NMBU. Ettersom dette genet er relativt nytt kan funnet anses som oppsiktsvekkende.

5.4.2.4 *aph(3')*-IIb (kanamycinresistens)

aph(3')-IIb ble også funnet etter helgenomsekvensering av prøve 3. Genet er et kromosomalt aminoglykosid forfotransferasegen og ble først oppdaget i *P. aeruginosa* i 1996 (Hächler, Santanam & Kayser, 1996). Genet gir bakterien resistens mot flere viktige aminoglykosidantibiotika, inkludert kanamycin A, neomycin B og C, butirosin og seldomycin F5 (Zeng & Jin, 2003). Zeng og Jin (2003) har vist at *aph(3')*-IIb danner et operon sammen med *hpaA*. Dette operonet aktiveres av HpaA når 4-hydroksyfenyleddiksyre er til stede. *P. aeruginosa* vil da kun bruke 4-hydroksyfenyleddiksyre som karbonkilde. Aktiveringen vil også føre til økt uttrykking av *aph(3')*-IIb, og dette gir økt resistens mot aminoglykosider.

5.4.2.5 *catB7* (kloramfenikolresistens)

Kloramfenikol acetyltransferase-gener (*cat*-gener) er utbredt blant gram-positive og gram-negative bakterier. *cat*-gener koder for kloramfenikol acetyltransferaser som katalyserer overføring av acetyl-gruppen fra acetyl CoA til et kloramfenikolmolekyl. Dette resulterer i inaktivering av den ene delen av molekylet slik at molekylet ikke lenger binder seg til den 50S ribosomale subenheten (Wang & Liu, 2004). *catB7* ble først oppdaget i *P. aeruginosa* i 1999 (White et al., 1999). Funnet av dette genet i prøve 3 fra Niagarabekken på NMBU er ikke overraskende da dette genet ofte er til stede i *P. aeruginosa* (Subedi, Vijay, Kohli, Rice & Willcox, 2018; Wang & Liu, 2004).

5.4.2.6 *fosA* (fosfomycinresistens)

Fosfomycin er et bredspektret antibiotikum som først ble oppdaget i 1969 (Falagas, Vouloumanou, Samonis & Vardakas, 2016). Det ble tidligere brukt til behandling av UVI og har i kombinasjon med andre antibiotika vist baktericid aktivitet mot flere antibiotikaresistente stammer. Årsaker til resistens mot fosfomycin hos bakterier er mutasjoner i opptak- og transportmekanismer eller tilstedeværelse av enzymer som modifierer fosfomycin. Fire slike enzymer har blitt beskrevet: FosA, FosB, FosC og FosX (Beharry & Palzkill, 2005). FosA er et metalloenzym som katalyserer konjugeringen av et

glutation til epoksidringen til fosfomycin. Dette fører til inaktivering av fosfomycin slik at bakterien blir resistent (Ito et al., 2017). *fosA* kan ligge både i bakteriens kromosom eller på et plasmid (Ito et al., 2017). En studie utført av Ito et al. (2017) viste at *fosA* finnes i svært mange gram-negative bakteriearter. Flere nyere studier har observert en utbredelse av fosfomycin-resistente stammer i pasienter og reservoarer i miljøet, der hovedårsaken til dette er *fosA* (Jiang et al., 2015; Villa et al., 2015). På bakgrunn av dette er det ikke funnet av *fosA* i *P. aeruginosa* fra prøve 3 overraskende.

5.4.2.7 EC (betalaktamase)

bla_{EC} koder for en klasse C betalaktamase. Genet har blant annet blitt observert i *E. coli*, *Salmonella* spp. og *Shigella* spp. (Sethuvel et al., 2019; Yang et al., 2020). I en studie utført av Yang et al. (2020) var *bla_{EC}* blant de ni vanligste ARG i flere av de åtte landene som var inkludert i studien. Funnet av dette genet i *E. coli* fra Niagarabekken anses derfor ikke som oppsiktsvekkende.

5.4.2.8 CTX-M (ESBL)

CTX-M-proteiner ble først oppdaget sent på 1980-tallet (Shaikh et al., 2015). Det finnes nå mer enn 50 typer CTX-M betalaktamaser og deres spredning både i og utenfor sykemiljø skaper store bekymringer. Flere land i Europa har hatt en alarmerende trend der ESBL-produserende organismer også viser resistens mot andre antibiotika, inkludert tetracyclin, gentamicin og ciprofloxacin. Stammer som produserer CTX-M-enzym er også mer resistente mot ciprofloxacin enn stammer uten *bla_{CTX-M}* (Pitout & Laupland, 2008). Det første tilfellet av CTX-M hos *K. pneumoniae* i Skandinavia var på Sykehuset i Stavanger i 2004 (Steinbakk et al., 2014).

E. coli er en av bakterieartene som produserer mest CTX-M betalaktamaser, og rapporter fra Israel og Spania viser at CTX-M-produserende *E. coli* er en viktig årsak til infeksjoner i blodstrømmen hos mennesker (Pitout & Laupland, 2008). En studie utført av Ben-Ami et al. (2006) undersøkte pasienter med bakteriemi forårsaket av Gram-negative bakterier utenfor sykehus. Resultatene viste at 14% tilfellene var forårsaket av ESBL-produserende organismer, der CTX-M-produserende *E. coli* var den mest vanlige. Disse bakteriene var multiresistente, og viste resistens mot trimetoprim (64%), gentamicin (61%) og ciprofloxacin

(64%). Tanner et al. (2019) observerte *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} og/eller *bla*_{OXA-48} i 6,4% av prøver tatt fra drikkevannskilder i USA. CTX-M-produserende bakterier har også blitt funnet i elver i Storbritannia (Amos, Hawkey, Gaze & Wellington, 2014). På bakgrunn av dette anses ikke funnet av *E. coli* med *bla*_{CTX-M} i en vannprøve som uvanlig. Funnet er allikevel bekymringsverdig, da *E. coli* ST1193 er en viktig årsak til ekstraintestinale sykdommer hos mennesker.

5.4.2.9 tet(B) (tetrasyklinresistens)

Tetrasyklin virker ved at det binder til ribosomene i bakterier og hemmer proteinsyntese. Det var en av de første bredspektrede antibiotika som ble oppdaget og er det antibiotikumet som har blitt produsert i størst skala. I tillegg til at det har blitt brukt i medisin hos mennesker og dyr har det også blitt brukt som vekstfremmer i dyrehold. Infeksjoner forårsaket av *E. coli* i mennesker behandles ikke med tetrasyklin, men til tross for dette er tetrasyklinresistens vanlig hos *E. coli*. Resistens mot tetrasyklin hos bakterier kommer hovedsakelig av at efflukspumper bruker energi til å pumpe tetrasyklin ut av bakteriecellen (Karami, Nowrouzian, Adlerberth & Wold, 2006). Funnet av *tet(B)* i *E. coli* i denne oppgaven er ikke spesielt oppsiktsvekkende da dette genet er vanlig i *E. coli*. I en studie utført av Olowe, Idris og Taiwo (2013) ble *tet(B)* funnet i 32% av *E. coli*-isolatene fra forsøket.

5.4.2.10 erm(B) (makrolidresistens)

Makrolider har i flere tiår blitt brukt til behandling av infeksjoner forårsaket av Gram-positive kokker (Phuc Nguyen et al., 2009). Denne antibiotikagruppen hemmer proteinsyntesen ved å binde til 23S rRNA i den 50S ribosomale subenheten (Fyfe, Grossman, Kerstein & Sutcliffe, 2016; Marchandin et al., 2001). Tilegning av makrolidresistens kan foregå på flere ulike måter, og en vanlig mekanisme er ribosomal metylering forårsaket av rRNA metyltransferaser produsert av *erm*-gen(Qin et al., 2014). Denne mekanismen har blitt observert i flere ulike bakteriearter og er den mest utbredte typen makrolidresistens i patogene bakterier. I januar 2016 hadde 38 ulike *erm*-gener blitt rapportert, og *erm(B)* var oppdaget i 36 slekter (Fyfe et al., 2016). Patterson, Colangeli, Spigaglia og Scott (2007) undersøkte prøver fra jord og avføring fra dyr etter tetrasyklin- og erytromycin-resistensgener. Resultatene viste at *erm(B)* ble funnet i avføring fra dyr. Da Ås er et gammelt landbrukssamfunn og det fortsatt finnes

relativt store gårdbruk i områdene rundt NMBU er ikke funnet av dette genet i prøve 4 veldig oppsiktsvekkende.

5.4.2.11 mph(A) (makrolidresistens)

I prøve 4 ble *mph(A)*-genet identifisert. *mph(A)* gir resistens mot azitromycin og har blitt oppdaget i *E. coli*-isolater fra fire ulike verdensdeler (Phuc Nguyen et al., 2009). Genet koder for fosfotransferaser som katalyserer modifisering av makrolider. Dette fører til at makrolidene ikke lenger kan binde til den 50S ribosomale subenheten slik at de mister sin antibiotiske effekt. Minst 15 undergrupper av MPH-gener er funnet. I tillegg til *E. coli* er *mph(A)* også oppdaget i *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp. og *Staphylococcus aureus* (Golkar, Zielinski & Berghuis, 2018). Uttrykking av *mph(A)* induseres av erytromycin. MPH kan gi resistens til flere ulike makrolider, og er utspredd i Gram-negative og Gram-positive bakterier (Fyfe et al., 2016). En studie utført av Chesneau, Tsvetkova og Courvalin (2007) viste at Mph(A) ga resistens mot erytromycin, telitromycin, azitromycin og spiramycin. MPH er utspredd i bakterier funnet på sykehus, i dyrehold, i jordbruk og i miljøet. Gener som koder for MPH er ofte plassert på mobile genetiske elementer som inneholder andre gener som koder for makrolidresistens. *mph(A)* har blant annet blitt funnet på plasmider som koder for CTX-M i *E. coli* (Fyfe et al., 2016). På bakgrunn av dette er ikke funnet av dette genet i *E. coli* fra miljøet overraskende, men det er likevel uheldig da genet kan spres videre til andre bakterier fra *Enterobacteriaceae*-familien gjennom HGO.

5.4.2.12 dfr-A17 (trimetoprimresistens)

drf-A17 ble funnet i prøve 4 og koder for trimetoprimresistens. Trimetoprim brukes ofte til behandling av UVI. Det ble imidlertid kort tid etter stoffet ble tatt i bruk rapportert om resistens i flere arter, og trimetoprimresistens blant bakterier i *Enterobacteriaceae*-familien øker. Resistens mot trimetoprim i bakterier forårsakes av modifiseringer av målenzymet dihydrofolat reduktase (dfr), som kodes av *dfr*-gener. Disse genene assosieres ofte med integroner, og dette gjør det mulig for genene å spres mellom bakterier gjennom HGO (Brolund, Sundqvist, Kahlmeter & Grape, 2010). Funnet av *drf-A17* i *E. coli* på NMBU er derfor lite heldig da disse genene med trimetoprimresistens raskt kan spres til andre bakterier. *drf*-gener har tidligere blitt funnet i avløpsrensaneanlegg i blant annet i Portugal og Sør-Afrika (Ferreira da Silva, Vaz-Moreira, Gonzalez-Pajuelo, Nunes & Manaia, 2007; Jacobs & Chenia,

2007; Moura, Henriques, Ribeiro & Correia, 2007). I tillegg har de blitt oppdaget i elvevann i India (Mukherjee & Chakraborty, 2006). At prøve 4 inneholdt *dfr-A17* er derfor ikke overraskende, selv om det kan skape bekymring.

5.4.3 Virulensgener i prøvene

Etter helgenomsekvenseringen ble det i tillegg til resistensgener også søkt etter virulensgener i prøvene. Søk etter virulensgener ble gjort med Prof. Bjørn-Arne Lindstedts egne upubliserte nBLAST søke-«pipeline». Virulens er en organismes evne til å infisere en vert og forårsake sykdom. Virulensgener koder for virulensfaktorer, og dette er molekylene som hjelper bakterien med å kolonisere verten på cellenivå (Sharma et al., 2017). I denne oppgaven ble flere viktige virulensgener identifisert i prøve 3 og 4.

5.4.3.1 Virulensgener i *Pseudomonas aeruginosa*

Flere ulike virulensgener ble funnet i *P. aeruginosa* i prøve 3. En av genene var *fptA*, som koder for en jernpyochelin-reseptor (FptA) (Ankenbauer & Quan, 1994). En patogen bakteries evne til å ta opp jern er essensiell for vekst og infeksjon. Jerntransport i bakterier korreleres derfor med bakteriens evne til å fremkalle sykdom (D. E. Heinrichs, Young & Poole, 1991). FptA er et yttermembranprotein og produseres ved mangel på jern (D. E. Heinrichs & Poole, 1996). *P. aeruginosa* kan også bruke enterobactin til opptak av jern ved hjelp av jern-enterobactinreseptoren PfeA. *pfeA* reguleres negativt når jern er til stede og reguleres positivt gjennom genprodukter av *pfeR* og *pfeS* (Rehm, 2008).

Virulensfaktoren LasB ble også identifisert i *P. aeruginosa*. Dette er en elastolytisk metalloproteinase og kodes av *lasB* (Leduc et al., 2007). LasB anses som en viktig virulensfaktor i *P. aeruginosa* og over 75% av kliniske isolater av bakteriearten skiller ut LasB (Kuang et al., 2011). Proteinase har proteolytisk aktivitet mot flere typer substrater og kan kjempe mot vertens immunforsvar. I tillegg er det rapportert at LasB kan degradere muciner og surfaktant-proteiner som promoterer bakteriell klaring (Casilag et al., 2016). Saint-Criq et al. (2018) viste at LasB er hovedansvarlig for degradering av cystisk fibrose transmembran regulatoren (CFTR). Lavere eller endret funksjon i dette proteinet påvirker ionetransport over cellemembranen i flere vev i kroppen som igjen kan føre til at personen får CF (Hull, 2012).

Bakterier som vokser i biofilmer er ansvarlige for et høyt antall infeksjoner. Disse bakteriene er også ofte mer resistente mot antibiotika enn bakterier som vokser fritt. *ndvB*-genet koder for en glucosyltransferase som er viktig for dannelsen av periplasmiske glukane. Glukanene er viktig i biofilm-spesifikk antibiotikaresistens da de holder de antibiotiske molekylerne unna cytoplasma. Studier har vist at inaktivering av *ndvB* stopper glukaneproduksjonen men ikke hemmer dannelse av biofilm. Bakteriene uten *ndvB* hadde imidlertid økt sensitivitet til tobramycin, gentamicin og ciprofloxacin (Beaudoin et al., 2012).

toxA koder for eksotoksin A (ETA) som anses som en svært viktig ekstracellulær virulensfaktor i kliniske infeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa* (Dong et al., 2015). ETA er en ADP-ribosyl transferase og kan irreversibelt hemme proteinsyntese i eukaryote celler, som fører til celledød (Gaines et al., 2007). Enzymet kan også bidra til alvorlig skade på vev og nekrose (Haghi, Nezhad & Zeighami, 2019). Regulering av ETA-produksjonen påvirkes både av miljø, som temperatur, oksygen- og jern-nivåer, og av regulatorer (Gaines et al., 2007).

Funnet av disse virulensgenene sammen med resistensgenene som ble funnet i *P. aeruginosa* i prøve 3 kan anses som bekymringsverdig. Spesielt kan denne bakterien være farlig for mennesker med cystisk fibrose, da de er mer utsatt for alvorlig sykdom ved infeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa*. Resistensgenene som ble identifisert i prøven tyder også på at det kan være vanskelig å behandle infeksjoner forårsaket av dette bakterieisolatet funnet i Niagarabekken.

5.4.3.2 Virulensgener i *Escherichia coli*

Det ble identifisert svært mange virulensgener fra *E. coli* i prøve 4. Flere gener som kodet for autotransportørproteiner assosiert med virulens ble funnet. Et av disse genene er *antigen-43*, som koder for autotransportørproteinet Antigen-43 (Ag43). Ag43 kan mediere autoaggregering og flokkulering av *E. coli*-celler i statiske kulturer (Kjærgaard, Schembri, Hasman & Klemm, 2000). UpaB og UpaC er to nært relaterte autotransportør-adhesiner. Genene som koder for disse proteinene, *upaB* og *upaC*, er svært vanlige i *E. coli* (Allsopp et al., 2012). Allsopp et al. (2012) viste at UpaB medierer binding til ECM-proteiner, mens UpaC bidrar til dannelse av biofilm *in vitro*. Studien tydet også på at *upaB* bidrar til UPEC-virulens, da genet var til stede i alle UPEC-genomene men ikke i diarégeniske *E. coli*-

genomer. Et annet autotransportørprotein er Sat som kodes av *sat*. Proteinets virkemekanisme er aktivitet i celler i blære og nyrer, og ble først beskrevet i UPEC. Proteinets virkemekanisme er ikke fullt forstått, men man tror toksinet entrer celler og kløyver proteiner assosiert med cellenes cytoskjelett. I tillegg tror man at toksinet kan indusere autofagi og degradere koaguleringsfaktor V (Vieira et al., 2020). *ehaC* koder også for et autotransportørprotein C, som er involvert i dannelse av biofilm i EHEC-stammer (Abreu et al., 2013). I en studie utført av Xu et al. (2017) ble *ehaC* detektert i over 80% av atypiske EPEC-isolater. Genet ble oftere funnet i pasienter med diaré, dyr og rått kjøtt enn i friske individer, og det hypotiseres at *ehaC* kan ha en rolle i atypisk EPEC-infeksjon. SinH er en viktig virulensfaktor i *Salmonella* og koder for et intimin-lik inverst autotransportørprotein (Heinz et al., 2016).

Isolater av *E. coli* som inneholder *chuA*, *fyuA*, *vat* og *yfcV* er ofte bærere av et høyt antall andre virulensfaktorer. Disse stammene koloniserer også ofte blærer lettere enn stammer uten disse genene. I tillegg er tilstedeværelsen av disse fire genene assosiert med UPEC og neonatal meningitt *E. coli* (Spurbeck et al., 2012). ChuA er et yttermembranprotein og er ansvarlig for opptak av hem. Proteinets er identifisert i flere patogene *E. coli*-stammer. Bruk av heme og/eller hemoglobin kan være spesielt nyttig for patogene bakterier da disse bakteriene ofte skiller ut cytotoxiner. Cytotoksinene får tilgang til det intracellulære hem-reservoaret i tillegg til at de initierer invasjon av vev. Produksjon av cytotoxiner sammen med muligheten til å bruke hem og/eller hemoglobin kan derfor være en effektiv strategi for tilegning av jern under pågående infisering (Nagy et al., 2001). *fyuA* koder for yersiniabactinreseptoren FyuA, som er viktig for virulens. En studie utført av Hancock, Ferrieres og Klemm (2008) viste at FyuA er svært viktig for dannelse av biofilm i jernfattig miljø. Vat er et autotransportørprotein som bidrar til «fitness» hos UPEC under systematisk infeksjon (Nichols et al., 2016).

FdeC kan mediere adhesjon av *E. coli* til celler hos pattedyr og ekstracellulær matriks. Nesta et al. (2012) observerte *fdeC* var til stede i 99% av ExPEC-isolatene som ble identifisert, og dette tyder på at genet er svært vanlig i denne typen *E. coli*. Det ble hypotisert at uttrykk av FdeC avhenger av kontakt med vertscellen, da forsøk på å uttrykke FdeC *in vitro* ikke lyktes. I studien ble det også undersøkt om FdeC har en virulensrolle ved å utføre forsøk på mus der en gruppe ble infisert av *E. coli* med fungerende *fdeC* og en annen gruppe ble infisert med bakterier der *fdeC*-genet var mutert. Resultatene viste et betydelig høyere antall bakterier i

blærevev fra mus som ble infisert av *E. coli* med fungerende *fdeC*. Dette kan tyde på at FdeC er viktig for *E. colis* kolonisering av blære.

gipA ble først identifisert i *Salomonella Typhimurium* i 2000. Genet induseres i tynntarmen og har evnen til å kolonisere dette området (Stanley, Ellermeier & Slauch, 2000). Vazeille et al. (2016) observerte at *gipA* må være til stede for optimal kolonisering av Peyers plakk i mus og for AIECs overlevelse i makrofager.

iha koder for Iha, som er et adhesin homologt til IrgA. Genet assosieres med UPEC- og EHEC-stammer (Rashid, Tarr & Moseley, 2006). J. R. Johnson et al. (2000) observerte at *iha* var til stede i 55% av urosepsis-isolater. I tillegg var de oftere til stede i isolater fra immunokompetente verter, noe som kan tyde på at Iha har en patogen fordel.

En virulent bakteries evne til å vokse under forhold med lite jern kan fremme systemiske infeksjoner. Aerobactin er en siderofor som tidligere har blitt assosiert med patogenisitet i «avian pathogenic» *E. coli* (APEC). Aerobaktinoperonet inneholder *iucA*, *iucB*, *iucC*, *iucD* og *iutA*. *iutABCD* er ansvarlige for syntesen av aerobaktin, mens *iutA* er ansvarlig for aerobaktins opptak av jern (Ling et al., 2013). Yersiniabactin er også viktig for patogene bakteriers opptak av jern. *irp1* og *irp2* er begge involvert i syntese av dette molekylet (Souza Lopes et al., 2016). Yersiniabactin ble opprinnelig klassifisert som en siderofor, men Chaturvedi, Hung, Crowley, Stapleton og Henderson (2012) observerte at molekylet også binder Cu(II) på utsiden av cellen. I UPEC skilles ofte yersiniabactin ut sammen med enterobactin (Koh, Robinson, Bandara, Rogers & Henderson, 2017). Genene *sitA*, *sitB*, *sitC* og *sitD* koder for SitABCD, som er en mangan- og jerntransportør. Mangan bidrar til å beskytte bakterien mot oksidativt stress. I tillegg er det en kofaktor til flere ulike enzymer i bakterier (Sabri et al., 2006).

kpsC, *kpsD* og *kpsS* er alle del av et operon kalt kapselregion 1. Dette operonet er involvert i sammensetningen og transport av kapsulære polysakkarider, som for eksempel K1-kapselen (Schwan et al., 2005; Vann et al., 2004). K1-kapselen er en viktig virulensfaktor i flere patogene *E. coli*, inkludert stammer som kan gi UVI, neonatal meningitis og neonatal sepsis. I enkelte undersøkelser har K1-kapselen vært til stede i over 80% av isolater av neonatal meningitis *E. coli* (Kim, 2002). Kapselen gir organismen en antifagocytisk barriere. K1-kapselen er en alfa-2,8-linket polymer av sialinsyre. *neu*-genene, som inkluderer *neuB* og

neuC, er ansvarlige for biosyntesen, aktiveringen og polymeriseringen av denne syren (Vann et al., 2004).

malX koder for et fosfotransferasesystem-enzym II som gjenkjenner maltose og glukose. I stammer som gir ekstraintestinale infeksjoner er dette genet overrepresentert. Gener i bakterier som er assosiert med virulens er ofte lokalisert på områder i kromosomet. Disse områdene kalles patogenisitetsoyer (PAI). Flere PAI som gir ekstraintestinale infeksjoner er funnet i stammer av *E. coli* (Ostblom et al., 2011). *usp* ligger på en liten PAI nært relatert med UPEC. Funksjonen til Usp har ikke blitt funnet enda, men man tror Usp påvirker patogenesen til UPEC da *usp* oftere er assosiert med UPEC-stammer enn *E. coli*-isolater fra avføring (Zaw et al., 2013).

Fimbrier er utvekster på bakterieveggen og er en viktig virulensmarkør i ExPEC. Fimbriene kodes av en genkluster kalt *pap* som består av 11 gener i et operon. *papI* koder for proteiner som er ansvarlig for miljøregulering og fasevariasjon ved uttrykking av fimbrier. *papA* koder for en subenhet av disse fimbriene, PapA. Flere hundre til tusen kopier av PapA er til stede i hver fimbrie (Kariyawasam & Nolan, 2011). Källenius et al. (1981) observerte at fimbrier kodet av *pap*-gener er utbredt i UPEC-stammer som fører til pyelonefritt. Fimbrier fester bakterier til karbohydrater eller proteinreseptorer slik at bakterien ikke kan bevege seg. Uttrykking av *papX* fører til at ekspresjonen av flere motilitetsassosierte gener blir mindre. Bakteriene vil da ikke produsere flageller (Simms & Mobley, 2008).

5.5 Antibiotika sensitivitetstesting

For å undersøke hvilke antibiotika prøve 2, 3 og 4 kunne være resistente mot ble det brukt 12 ulike antibiotikateststrips. MIC-brytningspunktene ble deretter sammenlignet med verdiene fra EUCAST (2020).

Verdiene for klinisk brytningspunkt for MIC fra EUCAST (2020) for *Pseudomonas* var mangelfulle. Det kan allikevel se ut som bakterieisolatet i prøve 2 var resistent mot ampicillin, amoksisillin med klavulansyre, cefotaksim, streptomycin, erytromycin og trimetoprim da disse hadde høye verdier for inhiberingssoner. Det samme gjaldt prøve 3. Denne prøven hadde samme inhiberingssoneverdier for de nevnte antibiotika, med unntak av streptomycin, der verdien var 32 i stedet for 36 som i prøve 2. Det er allikevel rimelig å anta at også prøve 3

var resistent mot streptomycin. Resultatene fra antibiotikastriptestingen stemte noenlunde. Prøven inneholdt *bla_{OXA}* og *bla_{PDC}*, og testing med antibiotikastrips viste resistens mot penicillin og cefotaksim. Flere antibiotika det ble funnet resistensgener for ble ikke testet med antibiotikastrips. I tillegg ble det ikke observert resistens mot ciprofloxacin, selv om *crpP* ble identifisert ved helgenomsekvenseringen.

Antibiotika sensitivitetstesting viste at prøve 4 var resistent mot ampicillin, amoxicillin med klauvulansyre, cefotaksim, cefepim, ciprofloxacin, erytromycin og trimetoprim. Dette stemte svært godt overens med resultatene fra helgenomsekvenseringen, som viste at prøven inneholdt gener som ga resistens mot betalaktamer, makrolider og trimetoprim. Fluorokinolonresistensen kom mest sannsynlig av mutasjoner i DNA gyrase (*gyrA*), *parE* og topoisomerase IV (*parC*).

Betalaktamer har ofte blitt brukt til behandling av infeksjoner forårsaket av patogen *E. coli*. Etter oppdagelsen av betalaktamaser med resistens mot tredje generasjons kefalosporiner på 1980-tallet har det imidlertid blitt vanskeligere å behandle infeksjoner med denne typen antibiotika. Disse inkluderte primært ESBL-gener som TEM, SHV eller CTX-M. AmpC betalaktamaser førte senere til økt resistens mot cefamyciner og karbapenemer. Betalaktamasemediert resistens i *E. coli* kommer hovedsakelig gjennom erverving av gener gjennom HGO (Bajaj, Singh & Viridi, 2016). Betalaktamer har blitt brukt til behandling av infeksjoner forårsaket av *P. aeruginosa*, men også disse infeksjonene har blitt vanskeligere å behandle på grunn av økt resistens (Tam, Schilling, Melnick & Coyle, 2005). Det ble funnet gener som koder for betalaktamaser i både prøve 3 og 4 som forklarer resistensen observert med antibiotika sensitivitetstesting. I tillegg har *bla_{CTX-M}* økende resistens mot cefotaksim, og resistensen mot dette antibiotikumet i prøve 4 kan derfor forklares av dette genet (Shaikh et al., 2015). Dette genet kan også ha vært årsaken til cefepimresistensen i prøve 4, da CTX-M-enzymet kan hydrolysere cefepim (Bonnet, 2004).

Prøve 2 og 3 viste resistens mot streptomycin. Streptomycin er en aminoglycosid som virker ved å interagere direkte med den lille subenheten på ribosomet. Kromosomalt ervervet streptomycinresistens kommer ofte av mutasjoner i *rpsL* (Springer et al., 2001). Det ble ikke observert noen gener som skulle tilegne bakterieisolatene i prøve 2 og 3 resistens mot streptomycin, og det er derfor usikkert hvorfor disse viser resistens mot dette antibiotikumet.

Makrolidet erytromycin brukes ofte til behandling av infeksjoner forårsaket av *S. aureus* og er et vanlig alternativ for pasienter som er allergiske mot penicillin (Cyphert, Wallat, Pokorski & von Recum, 2017). Alle prøvene som ble testet var resistente mot erytromycin. Ervervet resistens mot makrolider kan forårsakes av flere ulike mekanismer. En av mekanismene er modifisering av målet ved hjelp av metylaser koder av *erm*-gener (Phuc Nguyen et al., 2009). I prøve 4 ble *erm(B)* identifisert. Makrolidresistens kan også komme av at makrolidet inaktiveres av modifiserende enzymer. Et eksempel på dette er fosfortransferaser kodet av *mph(A)* (Phuc Nguyen et al., 2009). Dette genet ble også identifisert, og disse to genene forklarer makrolidresistensen i prøve 4. *P. aeruginosa* anses som naturlig resistent mot makrolider, da makrolidene pumpes ut av bakterien ved hjelp av efflukssystemer (Mustafa et al., 2017). Erytromycinresistensen i prøve 2 og 3 var derfor ikke overraskende.

Trimetoprim er det antibiotikumet som oftest utskrives til pasienter med UVI (Lawrenson & Logie, 2001). UVI er en av de vanligste årsakene til antibiotikabruk hos kvinner i samfunnet. *E. coli* er hovedårsaken til de fleste av disse infeksjonene og derfor er økningen i antibiotikaresistens i arten bekymrende. Trimetoprim hemmer dihydrofolat reduktase, og den viktigste mekanismen til trimetoprimresistens er mutasjoner i *dhfr*-gener. I denne oppgaven ble et *dhfr*-resistensgen oppdaget, og det er nærliggende å tro at dette var årsaken til trimetoprimresistens i *E. coli*. Prøve 2 og 3 var også resistente mot trimetoprim. *P. aeruginosa* har ofte høy resistens mot trimetoprim. Årsaken til denne iboende resistensen er ikke kjent, men det har vært foreslått at det kan komme av lav affinitet til målenzymene og lav permeabilitet i yttermembranen til bakterien (Köhler et al., 1996).

Resistens mot fluorokinoloner kommer vanligvis av endringer i målenzymene *gyrA* eller topoisomerase V. Noen bakterier kan fungere kun med DNA gyrase men de fleste bakterier har begge enzymene. I Gram-negative bakterier er gyrase ofte mer utsatt for hemming av fluorokinoloner (Jacoby, 2005). I denne oppgaven ble det observert mutasjoner i *gyrA*, *parC* og *parE* som trolig har vært en årsak til fluorokinolonresistensen. Tilegning av tre mutasjoner på disse to genene gir høy resistens mot fluorokinoloner. Mutasjonene som fører til dette er en endring av aminosyre i posisjonene S87 og D87 hos GyrA, og S80 hos ParC (Tchesnokova et al., 2019). Resultatene fra helgenomsekvenseringen viste at alle disse mutasjonene var til stede i den det fluorokinolonresistente *E. coli*-isolatet funnet i oppgaven. Det ble også observert en mutasjon i *parE*. Man tror at mutasjon i dette genet også kan gi resistens mot fluorokinoloner, men flere undersøkelser er nødvendig for å vite mer om det (Fendukly,

Karlsson, Hanson, Kronvall & Dornbusch, 2003). Fluorokinolonresistens kan også komme av mutasjoner som endrer akkumuleringen av stoffet eller av plasmider som beskytter cellen mot fluorokinoloners effekt. For å nå målet må fluorokinoloner gjennom celleveggen og den cytoplasmiske membranen. I Gram-negative bakterier må de også gjennom en yttermembran. Gram-negative bakterier kan endre uttrykking av porinproteiner på yttermembranen som danner kanaler for passiv diffusjon. I tillegg har bakteriene efflukssystemer som kan fjerne fluorokinoloner fra cellen. Resistente kliniske isolater har ofte både endring av målet og aktivering av efflukspumper som resistensmekanismer (Jacoby, 2005).

Bakterieisolatene fra prøve 2, 3 og 4 var alle resistente mot antibiotika i tre eller flere antimikrobielle kategorier. De regnes derfor som MDR (Magiorakos et al., 2012). MDR bakterier er ofte assosiert med nosokomielle infeksjoner, men enkelte av disse bakteriene er nå ofte årsak til infeksjoner som har oppstått utenfor sykehus (van Duin & Paterson, 2016). En viktig årsak til at bakterier får MDR er HGO, som gjør det mulig for bakteriene å overføre antibiotikaresistente gener mellom arter (Sun, Jeannot, Xiao & Knapp, 2019). Spredningen av MDR i samfunnet assosieres med økt dødelighet, høyere helsekostnader og høyere forbruk av antibiotika (van Duin & Paterson, 2016).

5.6 Refleksjoner rundt antibiotikaresistensens opphav

NMBU ligger i Ås, som er et gammelt jordbrukssamfunn. Området rundt universitetet brukes fortsatt til landbruk og det er relativt kort avstand til nærmeste jorde fra der vannprøvene ble tatt. Antibiotika brukes ofte til behandling og for å hindre sykdom i dyr (Zhang et al., 2019). Gjødning inneholder antibiotikaresistente gener og kan også inneholde rester av antibiotika. Tidligere studier har vist at gårder og områdene rundt har ofte større mengder antibiotika, ARB og ARG enn andre områder. Disse studiene ble imidlertid utført i land og på gårder med relativt høyt bruk av antibiotika så det er usikkert om ARG er utbredt på samme måte rundt gårder med lavt forbruk av antibiotika. Spredning av ARG i jordbruksmiljø anses som en trussel da det er en mulighet for at disse genene spres fra gårder med dyrehold til bakterier som kan gi sykdom hos mennesker (Ruuskanen et al., 2016). Landbruket i Ås består i stor grad av dyrking av korn men også noe dyrehold (svin, storfe og høner) (Thorsnæs & Askheim, 2020). Prøvene ble isolert fra Andedammen, Niagarabekken og annen bekk på campus som ikke hadde vært i direkte kontakt med jordbruk. Allikevel kan fysiske krefter som vær og vind ha tatt med seg AR fra nærliggende områder.

Det ferdes det mange ulike fuglearter på campus i Ås, og når Andedammen ikke er frosset er det blant annet mye ender der. Tidligere studier har vist at mange ulike fuglearter er bærere av ARB, og resistent *E. coli* har blitt funnet i blant annet ender og gås (Bonnedahl & Jarhult, 2014). Det er derfor også mulig at trekkfugler kan ha tatt med seg ARG fra andre land der AR er høyere enn i Norge. AR kan også spres av mennesker. På NMBU ferdes studenter, ansatte og besøkende daglig, og dette kan bidra til å spre ARG i området. I tillegg til dette er omtrent 15% av studentene som studerer ved universitetet internasjonale studenter og nærmere 100 nasjoner er representert (NMBU, 2017). Det kan derfor også tenkes at disse studentene kan ha tatt med seg ARB til Ås, og at disse bakteriene har spredd ARG videre i miljøet.

5.7 Forslag til videre arbeid

I denne oppgaven ble det funnet flere MDR, patogene bakterier. Disse funnene viser viktigheten av forskning på ARG, og da spesielt gener som koder for ESBL, i miljøet. Det kan være interessant å undersøke hvordan disse genene har havnet på NMBU Campus Ås, for eksempel ved å undersøke forekomsten av ESBL i ville dyr og da særlig trekkfugler. Det kan også være interessant å undersøke andre vannkilder i området for å se om man får lignende resultater der. Det bør også undersøkes hvordan ARG, og da spesielt de som koder for ESBL, kan flyttes mellom bakteriearter via HGO.

6 KONKLUSJON

Formålet med oppgaven var å undersøke om bakterier med gener som koder for ESBL var til stede i vannprøver hentet inn fra NMBU Campus Ås. Ved hjelp av fenotypiske og genotypiske metoder ble det påvist MDR *P. aeruginosa* og *E. coli* i Niagarabekken på campus. Begge bakterieisolatene inneholdt flere ARG, og *E. coli*-isolatet inneholdt også *bla*_{CTX-M}, som koder for ESBL. Dersom disse ARG ligger på plasmider kan de fremme AR blant andre bakterier i miljøet ved at genene overføres via HGO. Funnene i oppgaven viser at det er et behov for videre undersøkelser av ARB og ARG i vannmiljøer. Resultatene kan også tyde på at vannmiljøer kan være et viktig ledd i spredning av AR, men klare slutninger kan ikke trekkes uten videre forskning på området.

7 REFERANSER

- Abreu, A. G., Bueris, V., Porangaba, T. M., Sircili, M. P., Navarro-Garcia, F. & Elias, W. P. (2013). Autotransporter protein-encoding genes of diarrheagenic *Escherichia coli* are found in both typical and atypical enteropathogenic *E. coli* strains. *Appl Environ Microbiol*, 79(1), 411-414. <https://doi.org/10.1128/AEM.02635-12>
- Allsopp, L. P., Beloin, C., Ulett, G. C., Valle, J., Totsika, M., Sherlock, O., ... Schembri, M. A. (2012). Molecular characterization of UpaB and UpaC, two new autotransporter proteins of uropathogenic *Escherichia coli* CFT073. *Infect Immun*, 80(1), 321-332. <https://doi.org/10.1128/IAI.05322-11>
- Amos, G. C., Hawkey, P. M., Gaze, W. H. & Wellington, E. M. (2014). Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment. *J Antimicrob Chemother*, 69(7), 1785-1791. <https://doi.org/10.1093/jac/dku079>
- Andersson, D. I. & Hughes, D. (2010). Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol*, 8(4), 260-271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>
- Ankenbauer, R. G. & Quan, H. N. (1994). FptA, the Fe(III)-Pyochelin Receptor of *Pseudomonas aeruginosa*: a Phenolate Siderophore Receptor Homologous to Hydroxamate Siderophore Receptors. *Journal of Bacteriology*, 176(2), 307-319. <https://doi.org/10.1128/jb.176.2.307-319.1994>
- Applications of Clinical Microbial Next-Generation Sequencing: Report on an American Academy of Microbiology Colloquium held in Washington, DC, in April 2015.* (2016). American Academy of Microbiology.
- Aubert, D., Poirel, L., Ali, A. B., Goldstein, F. W. & Nordmann, P. (2001). OXA-35 is an OXA-10-related beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 717-721. <https://doi.org/10.1093/jac/48.5.717>
- Bajaj, P., Singh, N. S. & Viridi, J. S. (2016). *Escherichia coli* beta-Lactamases: What Really Matters. *Front Microbiol*, 7, 417. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00417>
- Balouiri, M., Sadiki, M. & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., ... Prjibelski, A. D. (2012). SPAdes: a new genome assembly algorithm and its

- applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology*, 19(5), 455-477.
- Baquero, F., Martinez, J. L. & Canton, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol*, 19(3), 260-265.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- Beaudoin, T., Zhang, L., Hinz, A. J., Parr, C. J. & Mah, T. F. (2012). The biofilm-specific antibiotic resistance gene ndvB is important for expression of ethanol oxidation genes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J Bacteriol*, 194(12), 3128-3136.
<https://doi.org/10.1128/JB.06178-11>
- Beceiro, A., Tomas, M. & Bou, G. (2013). Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world? *Clin Microbiol Rev*, 26(2), 185-230. <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-12>
- Beharry, Z. & Palzkill, T. (2005). Functional analysis of active site residues of the fosfomycin resistance enzyme FosA from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem*, 280(18), 17786-17791. <https://doi.org/10.1074/jbc.M501052200>
- Ben-Ami, R., Schwaber, M. J., Navon-Venezia, S., Schwartz, D., Giladi, M., Chmelnitsky, I., ... Carmeli, Y. (2006). Influx of Extended-Spectrum b-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae into the Hospital. *Clinical Infectious Diseases*, 42(7), 925-934.
<https://doi.org/10.1086/500936>
- Bindayna, K. M., Senok, A. C. & Jamsheer, A. E. (2009). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Bahrain. *J Infect Public Health*, 2(3), 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2009.04.005>
- Bolger, A. M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bonnedahl, J. & Jarhult, J. D. (2014). Antibiotic resistance in wild birds. *Ups J Med Sci*, 119(2), 113-116. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.905663>
- Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(1), 1-14.
<https://doi.org/10.1128/aac.48.1.1-14.2004>
- Bonnin, R. A., Bogaerts, P., Girlich, D., Huang, T. D., Dortet, L., Glupczynski, Y. & Naas, T. (2018). Molecular Characterization of OXA-198 Carbapenemase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 62.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02496-17>

- Bonomo, R. A., Burd, E. M., Conly, J., Limbago, B. M., Poirel, L., Segre, J. A. & Westblade, L. F. (2018). Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. *Clin Infect Dis*, 66(8), 1290-1297. <https://doi.org/10.1093/cid/cix893>
- Botelho, J., Grosso, F. & Peixe, L. (2020). ICEs are the main reservoirs of the ciprofloxacin-modifying crpP gene in *Pseudomonas aeruginosa*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.991208>
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*, 14(4), 933-951, table of contents. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Brolund, A., Sundqvist, M., Kahlmeter, G. & Grape, M. (2010). Molecular characterisation of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a two year intervention on trimethoprim use. *PLoS One*, 5(2), e9233. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009233>
- Bush, K. & Bradford, P. A. (2016). beta-Lactams and beta-Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6(8). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- Casilag, F., Lorenz, A., Krueger, J., Klawonn, F., Weiss, S. & Haussler, S. (2016). The LasB Elastase of *Pseudomonas aeruginosa* Acts in Concert with Alkaline Protease AprA To Prevent Flagellin-Mediated Immune Recognition. *Infect Immun*, 84(1), 162-171. <https://doi.org/10.1128/IAI.00939-15>
- CDC. (2019). Antibiotic Resistance Threats in the United States. <https://doi.org/10.15620/cdc:82532>
- Chaturvedi, K. S., Hung, C. S., Crowley, J. R., Stapleton, A. E. & Henderson, J. P. (2012). The siderophore yersiniabactin binds copper to protect pathogens during infection. *Nat Chem Biol*, 8(8), 731-736. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1020>
- Chávez-Jacobo, V. M., Hernández-Ramírez, K. C., Silva-Sánchez, J., Garza-Ramos, U., Barrios-Camacho, H., Ortiz-Alvarado, R., ... Ramírez-Díaz, M. I. (2019). Prevalence of the crpP gene conferring decreased ciprofloxacin susceptibility in enterobacterial clinical isolates from Mexican hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(5), 1253-1259.
- Chesneau, O., Tsvetkova, K. & Courvalin, P. (2007). Resistance phenotypes conferred by macrolide phosphotransferases. *FEMS Microbiol Lett*, 269(2), 317-322. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00643.x>

- Cho, H. H., Kwon, G. C., Kim, S. & Koo, S. H. (2015). Distribution of Pseudomonas-Derived Cephalosporinase and Metallo-beta-Lactamases in Carbapenem-Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolates from Korea. *J Microbiol Biotechnol*, 25(7), 1154-1162. <https://doi.org/10.4014/jmb.1503.03065>
- Corcoran, E., Nellemann, C., Baker, E., Bos, R., Osborn, D. & Savelli, H. (2010). Sick water? The central role of wastewater management in sustainable development - A rapid response assessment. *United Nations Environment Programme, UN-HABITAT*. Hentet fra https://www.susana.org/_resources/documents/default/3-2236-22-1428912362.pdf
- Črnigoj, M., Podlesek, Z., Budič, M. & Žgur-Bertok, D. (2014). The Escherichia coli uropathogenic-specific-protein-associated immunity protein 3 (Imu3) has nucleic acid-binding activity. *BMC Microbiology*, 14(16). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-16>
- Cyphert, E. L., Wallat, J. D., Pokorski, J. K. & von Recum, H. A. (2017). Erythromycin Modification That Improves Its Acidic Stability while Optimizing It for Local Drug Delivery. *Antibiotics (Basel)*, 6(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics6020011>
- Dallenne, C., Da Costa, A., Decre, D., Favier, C. & Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*, 65(3), 490-495. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp498>
- Daubin, V. & Szollosi, G. J. (2016). Horizontal Gene Transfer and the History of Life. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 8(4), a018036. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018036>
- De Lorenzo, V., Bindereif, A., Paw, B. H. & Neilands, J. B. (1986). Aerobactin Biosynthesis and Transport Genes of Plasmid Co1V-K30 in Escherichia coli K-12. *Journal of Bacteriology*, 165(2), 570-578. <https://doi.org/10.1128/jb.165.2.570-578.1986>
- Dean, C. R., Neshat, S. & Poole, K. (1996). PfeR, an Enterobactin-Responsive Activator of Ferric Enterobactin Receptor Gene Expression in Pseudomonas aeruginosa. *Journal of Bacteriology*, 178(18), 5361-5369.
- Devanga Ragupathi, N. K., Muthuirulandi Sethuvel, D. P., Inbanathan, F. Y. & Veeraraghavan, B. (2018). Accurate differentiation of Escherichia coli and Shigella serogroups: challenges and strategies. *New Microbes New Infect*, 21, 58-62. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2017.09.003>
- Dey, P. (2018). *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology* Springer, Singapore.

- Dong, D., Zou, D., Liu, H., Yang, Z., Huang, S., Liu, N., ... Huang, L. (2015). Rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* targeting the *toxA* gene in intensive care unit patients from Beijing, China. *Front Microbiol*, 6, 1100.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01100>
- Elfarash, A., Dingemans, J., Ye, L., Hassan, A. A., Craggs, M., Reimmann, C., ... Cornelis, P. (2014). Pore-forming pyocin S5 utilizes the FptA ferripyochelin receptor to kill *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 160(Pt 2), 261-269.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.070672-0>
- EUCAST. (2020). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. Hentet fra <http://www.eucast.org>
- Europakommisjonen. (2016). Antimicrobial Resistance, Antibiotics in the EU - Use & Perceptions.
- Evans, B. A. & Amyes, S. G. (2014). OXA beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 27(2), 241-263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
- Falagas, M. E., Vouloumanou, E. K., Samonis, G. & Vardakas, K. Z. (2016). Fosfomycin. *Clin Microbiol Rev*, 29(2), 321-347. <https://doi.org/10.1128/CMR.00068-15>
- Fendukly, F., Karlsson, I., Hanson, H. S., Kronvall, G. & Dornbusch, K. (2003). Patterns of mutations in target genes in septicemia isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with resistance or reduced susceptibility to ciprofloxacin. *APMIS*, 111(9), 857-866. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2003.1110904.x>
- Ferreira da Silva, M., Vaz-Moreira, I., Gonzalez-Pajuelo, M., Nunes, O. C. & Manaia, C. M. (2007). Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant. *FEMS Microbiol Ecol*, 60(1), 166-176.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00268.x>
- Finton, M. D. (2020). Accepted Manuscript. *Frontiers in Microbiology*.
- Fyfe, C., Grossman, T. H., Kerstein, K. & Sutcliffe, J. (2016). Resistance to Macrolide Antibiotics in Public Health Pathogens. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6(10).
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025395>
- Gaines, J. M., Carty, N. L., Tiburzi, F., Davinic, M., Visca, P., Colmer-Hamood, J. A. & Hamood, A. N. (2007). Regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* *toxA*, *regA* and *ptxR* genes by the iron-starvation sigma factor PvdS under reduced levels of oxygen. *Microbiology*, 153(Pt 12), 4219-4233. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011338-0>

- Ganguli, S., Zapata, G., Wallis, T., Reid, C., Boulnois, G., Vann, W. F. & Roberts, I. S. (1994). Molecular Cloning and Analysis of Genes for Sialic Acid Synthesis in *Neisseria meningitidis* Group B and Purification of the Meningococcal CMP-NeuNAc Synthetase Enzyme. *Journal of Bacteriology*, 176(15), 4583-4589.
<https://doi.org/10.1128/jb.176.15.4583-4589.1994>
- Garibyan, L. & Avashia, N. (2013). Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *J Invest Dermatol*, 133(3), 1-4. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.1>
- Gillings, M. R. (2014). Integrins: past, present, and future. *Microbiol Mol Biol Rev*, 78(2), 257-277. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00056-13>
- Girlich, D., Naas, T. & Nordmann, P. (2004). Biochemical characterization of the naturally occurring oxacillinase OXA-50 of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(6), 2043-2048. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.2043-2048.2004>
- Golkar, T., Zielinski, M. & Berghuis, A. M. (2018). Look and Outlook on Enzyme-Mediated Macrolide Resistance. *Front Microbiol*, 9, 1942.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01942>
- Gupta, N., Limbago, B. M., Patel, J. B. & Kallen, A. J. (2011). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis*, 53(1), 60-67.
<https://doi.org/10.1093/cid/cir202>
- Guyer, D. M., Radulovic, S., Jones, F. E. & Mobley, H. L. (2002). Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect Immun*, 70(8), 4539-4546.
<https://doi.org/10.1128/iai.70.8.4539-4546.2002>
- Haghi, F., Nezhad, B. B. & Zeighami, H. (2019). Effect of subinhibitory concentrations of imipenem and piperacillin on *Pseudomonas aeruginosa* *tox*A and *exo*S transcriptional expression. *New Microbes New Infect*, 32, 100608.
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100608>
- Hancock, V., Ferrieres, L. & Klemm, P. (2008). The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine. *Microbiology*, 154(Pt 1), 167-175.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011981-0>
- Heinrichs, D. E. & Poole, K. (1996). PchR, a Regulator of Ferripyochelin Receptor Gene (*fptA*) Expression in *Pseudomonas aeruginosa*, Functions Both as an Activator and as a Repressor. *Journal of Bacteriology*, 178(9), 2586-2592.
<https://doi.org/10.1128/jb.178.9.2586-2592.1996>

- Heinrichs, D. E., Young, L. & Poole, K. (1991). Pyochelin-Mediated Iron Transport in *Pseudomonas aeruginosa*: Involvement of a High-Molecular-Mass Outer Membrane Protein. *Infection and Immunity*, 59(10), 3680-3684.
- Heinz, E., Stubenrauch, C. J., Grinter, R., Croft, N. P., Purcell, A. W., Strugnell, R. A., ... Lithgow, T. (2016). Conserved Features in the Structure, Mechanism, and Biogenesis of the Inverse Autotransporter Protein Family. *Genome Biol Evol*, 8(6), 1690-1705. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw112>
- Hu, Y. J., Ogyu, A., Cowling, B. J., Fukuda, K. & Pang, H. H. (2019). Available evidence of antibiotic resistance from extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in paediatric patients in 20 countries: a systematic review and meta-analysis. *Bull World Health Organ*, 97(7), 486-501B. <https://doi.org/10.2471/BLT.18.225698>
- Huang, T. D., Bogaerts, P., Berhin, C., Guisset, A. & Glupczynski, Y. (2010). Evaluation of Brilliance ESBL agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta- lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol*, 48(6), 2091-2096. <https://doi.org/10.1128/JCM.02342-09>
- Hull, J. (2012). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator dysfunction and its treatment. *J R Soc Med*, 105 Suppl 2, S2-8. <https://doi.org/10.1258/jrsm.2012.12s001>
- Hutchings, M. I., Truman, A. W. & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol*, 51, 72-80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- Hächler, H., Santanam, P. & Kayser, F. H. (1996). Sequence and Characterization of a Novel Chromosomal Aminoglycoside Phosphotransferase Gene, aph(3')-IIb, in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 40(5), 1254-1256. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.5.1254>
- Integrated DNA Technologies. (2011). The Polymerase Chain Reaction. Hentet 13.05 2020
- Iredell, J., Brown, J. & Tagg, K. (2016). Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BMJ*, 352, h6420. <https://doi.org/10.1136/bmj.h6420>
- Irrgang, A., Falgenhauer, L., Fischer, J., Ghosh, H., Guiral, E., Guerra, B., ... Kasbohrer, A. (2017). CTX-M-15-Producing *E. coli* Isolates from Food Products in Germany Are Mainly Associated with an IncF-Type Plasmid and Belong to Two Predominant Clonal *E. coli* Lineages. *Front Microbiol*, 8, 2318. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02318>

- Ito, R., Mustapha, M. M., Tomich, A. D., Callaghan, J. D., McElheny, C. L., Mettus, R. T., ... Doi, Y. (2017). Widespread Fosfomycin Resistance in Gram-Negative Bacteria Attributable to the Chromosomal fosA Gene. *mBio*, (4).
<https://doi.org/10.1128/mBio.00749-17>
- Jacobs, L. & Chenia, H. Y. (2007). Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. isolated from South African aquaculture systems. *Int J Food Microbiol*, 114(3), 295-306. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.030>
- Jacoby, G. A. (2005). Mechanisms of Resistance to Quinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 41, S120-S126. <https://doi.org/https://doi.org/10.1086/428052>
- Janda, J. M. & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol*, 45(9), 2761-2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C. R., ... Lee, S. H. (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci*, 16(5), 9654-9692.
<https://doi.org/10.3390/ijms16059654>
- Jiang, Y., Shen, P., Wei, Z., Liu, L., He, F., Shi, K., ... Yu, Y. (2015). Dissemination of a clone carrying a fosA3-harboring plasmid mediates high fosfomycin resistance rate of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China. *Int J Antimicrob Agents*, 45(1), 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.08.010>
- Johnson, J. R., Jelacic, S., Schoening, L. M., Clabots, C., Shaikh, N., Mobley, H. L. & Tarr, P. I. (2005). The IrgA homologue adhesin Iha is an *Escherichia coli* virulence factor in murine urinary tract infection. *Infect Immun*, 73(2), 965-971.
<https://doi.org/10.1128/IAI.73.2.965-971.2005>
- Johnson, J. R., Russo, T. A., Tarr, P. I., Carlino, U., Bilge, S. S., Vary, J. C. & Stell, A. L. (2000). Molecular Epidemiological and Phylogenetic Associations of Two Novel Putative Virulence Genes, iha and iroNE. coli, among *Escherichia coli* Isolates from Patients with Urosepsis. *Infection and Immunity*, 68(5), 3040-3047.
- Johnson, T. J., Elnekave, E., Miller, E. A., Munoz-Aguayo, J., Flores Figueroa, C., Johnston, B., ... Johnson, J. R. (2019). Phylogenomic Analysis of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Sequence Type 1193, an Emerging Multidrug-Resistant Clonal Group. *Antimicrob Agents Chemother*, 63(1). <https://doi.org/10.1128/AAC.01913-18>
- Jolley, K. A., Bliss, C. M., Bennett, J. S., Bratcher, H. B., Brehony, C., Colles, F. M., ... Maiden, M. C. J. (2012). Ribosomal multilocus sequence typing: universal

- characterization of bacteria from domain to strain. *Microbiology*, 158(Pt 4), 1005-1015. <https://doi.org/10.1099/mic.0.055459-0>
- Jorgensen, J. H. & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*, 49(11), 1749-1755. <https://doi.org/10.1086/647952>
- Kapoor, G., Saigal, S. & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33(3), 300.
- Karami, N., Nowrouzian, F., Adlerberth, I. & Wold, A. E. (2006). Tetracycline resistance in *Escherichia coli* and persistence in the infantile colonic microbiota. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(1), 156-161. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.1.156-161.2006>
- Kariyawasam, S. & Nolan, L. K. (2011). papA gene of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Dis*, 55(4), 532-538. <https://doi.org/10.1637/9663-011911-Reg.1>
- Kim, K. S. (2002). Strategy of *Escherichia coli* for Crossing the Blood-Brain Barrier. *The Journal of Infectious Diseases*, 186, S220-S224. <https://doi.org/10.1086/344284>
- Kjærsgaard, K., Schembri, M. A., Hasman, H. & Klemm, P. (2000). Antigen 43 from *Escherichia coli* Induces Inter- and Intraspecies Cell Aggregation and Changes in Colony Morphology of *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Bacteriology*, 182(17), 4789-4796. <https://doi.org/10.1128/jb.182.17.4789-4796.2000>
- Knothe, H., Shah, P., Krcmery, V., Antal, M. & Mitsuhashi, S. (1983). Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitin, Cefamandole and Cefuroxime in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11, 315-317. <https://doi.org/10.1007/BF01641355>
- Knudsen, P. K., Gammelsrud, K. W., Alfsnes, K., Steinbakk, M., Abrahamsen, T. G., Muller, F. & Bohlin, J. (2018). Transfer of a bla CTX-M-1-carrying plasmid between different *Escherichia coli* strains within the human gut explored by whole genome sequencing analyses. *Sci Rep*, 8(1), 280. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18659-2>
- Koh, E. I., Robinson, A. E., Bandara, N., Rogers, B. E. & Henderson, J. P. (2017). Copper import in *Escherichia coli* by the yersiniabactin metallophore system. *Nat Chem Biol*, 13(9), 1016-1021. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2441>
- Kolbert, C. P. & Persing, D. H. (1999). Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens. *Current Opinion in Microbiology*, 2(3), 299-305.

- Kong, K. F., Schneper, L. & Mathee, K. (2010). Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *APMIS*, 118(1), 1-36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02563.x>
- Kuang, Z., Hao, Y., Walling, B. E., Jeffries, J. L., Ohman, D. E. & Lau, G. W. (2011). Pseudomonas aeruginosa elastase provides an escape from phagocytosis by degrading the pulmonary surfactant protein-A. *PLoS One*, 6(11), e27091. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027091>
- Källenius, G., Svenson, S. B., Hultberg, H., Möllby, R., Helin, I., Cedergren, B. & Winberg, J. (1981). Occurrence of P-fimbriated Escherichia coli in urinary tract infections *The Lancet*, 318(8260), 1369-1372. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(81\)92797-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)92797-5)
- Köhler, T., Kok, M., Michea-Hamzhepour, M., Plesiat, P., Gotoh, N., Nishino, T., ... Pechere, J. C. (1996). Multidrug Efflux in Intrinsic Resistance to Trimethoprim and Sulfamethoxazole in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother*, 40(10), 2288-2290.
- Laudy, A. E., Rog, P., Smolinska-Krol, K., Cmiel, M., Sloczynska, A., Patzer, J., ... Tyski, S. (2017). Prevalence of ESBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. *PLoS One*, 12(6), e0180121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180121>
- Lawrenson, R. A. & Logie, J. W. (2001). Antibiotic failure in the treatment of urinary tract infections in young women. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(6), 895-901. <https://doi.org/10.1093/jac/48.6.895>
- Leduc, D., Beaufort, N., de Bentzmann, S., Rousselle, J. C., Namane, A., Chignard, M. & Pidad, D. (2007). The Pseudomonas aeruginosa LasB metalloproteinase regulates the human urokinase-type plasminogen activator receptor through domain-specific endoproteolysis. *Infect Immun*, 75(8), 3848-3858. <https://doi.org/10.1128/IAI.00015-07>
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y. & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *J Vis Exp*, (62). <https://doi.org/10.3791/3923>
- Liakopoulos, A., Mevius, D. & Ceccarelli, D. (2016). A Review of SHV Extended-Spectrum beta-Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous. *Front Microbiol*, 7, 1374. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01374>
- Lindstedt, B. A. (2020, 28.04). Personlig kommunikasjon. I.
- Ling, J., Pan, H., Gao, Q., Xiong, L., Zhou, Y., Zhang, D., ... Liu, X. (2013). Aerobactin synthesis genes iucA and iucC contribute to the pathogenicity of avian pathogenic

- Escherichia coli O2 strain E058. *PLoS One*, 8(2), e57794.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057794>
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 18(3), 268-281.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Marchandin, H., Jean-Pierre, H., Jumas-Bilak, E., Isson, L., Drouillard, B., Darbas, H. & Carrière, C. (2001). Distribution of macrolide resistance genes erm(B) and mef(A) among 160 penicillin-intermediate clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* isolated in Southern France. *Pathol Biol*, 49(7), 522-527.
[https://doi.org/10.1016/s0369-8114\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/s0369-8114(01)00212-7)
- Martinez, J. L. (2012). Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants: the two ages in the evolution of resistance to antimicrobials. *Front Microbiol*, 3, 1. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00001>
- Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis*, 3(1), 15-21. <https://doi.org/10.1177/2049936115621709>
- Meyrier, A. (1999). Urinary Tract Infection. I R. W. Schrier, A. H. Cohen, R. J. Glassock & J. P. Grünfeld (Red.), *Atlas of Diseases of the kidney* (bd. 2). Oxford: Blackwell Science.
- Moura, A., Henriques, I., Ribeiro, R. & Correia, A. (2007). Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. *J Antimicrob Chemother*, 60(6), 1243-1250. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm340>
- Mukherjee, S. & Chakraborty, R. (2006). Incidence of class 1 integrons in multiple antibiotic-resistant Gram-negative copiotrophic bacteria from the River Torsa in India. *Res Microbiol*, 157(3), 220-226. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.08.003>
- Munita, J. M. & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Mustafa, M. H., Khandekar, S., Tunney, M. M., Elborn, J. S., Kahl, B. C., Denis, O., ... Van Bambeke, F. (2017). Acquired resistance to macrolides in *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients. *Eur Respir J*, 49(5).
<https://doi.org/10.1183/13993003.01847-2016>
- Nagy, G., Dobrindt, U., Kupfer, M., Emody, L., Karch, H. & Hacker, J. (2001). Expression of hemin receptor molecule ChuA is influenced by RfaH in uropathogenic *Escherichia*

- coli strain 536. *Infect Immun*, 69(3), 1924-1928.
<https://doi.org/10.1128/IAI.69.3.1924-1928.2001>
- Nesta, B., Spraggon, G., Alteri, C., Moriel, D. G., Rosini, R., Veggi, D., ... Soriani, M. (2012). FdeC, a novel broadly conserved Escherichia coli adhesin eliciting protection against urinary tract infections. *mBio*, 3(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00010-12>
- Nichols, K. B., Totsika, M., Moriel, D. G., Lo, A. W., Yang, J., Wurpel, D. J., ... Schembri, M. A. (2016). Molecular Characterization of the Vacuolating Autotransporter Toxin in Uropathogenic Escherichia coli. *J Bacteriol*, 198(10), 1487-1498.
<https://doi.org/10.1128/JB.00791-15>
- NMBU. (2017). Om å studere ved NMBU. Hentet 30.05 2020 fra
<https://www.nmbu.no/studier/for-studenter/student-ved-nmbu/node/11659>
- Olowe, O. A., Idris, O. J. & Taiwo, S. S. (2013). Prevalence of tet genes mediating tetracycline resistance in Escherichia coli clinical isolates in Osun State, Nigeria. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*, 3(2), 135-140. <https://doi.org/10.1556/EuJMI.3.2013.2.7>
- Ostblom, A., Adlerberth, I., Wold, A. E. & Nowrouzian, F. L. (2011). Pathogenicity island markers, virulence determinants malX and usp, and the capacity of Escherichia coli to persist in infants' commensal microbiotas. *Appl Environ Microbiol*, 77(7), 2303-2308.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02405-10>
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J. & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*, 37(1), 177-192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
- Patterson, A. J., Colangeli, R., Spigaglia, P. & Scott, K. P. (2007). Distribution of specific tetracycline and erythromycin resistance genes in environmental samples assessed by macroarray detection. *Environ Microbiol*, 9(3), 703-715.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01190.x>
- Pesci, E. C., Milbank, J. B. J., Pearson, J. P., McKnight, S., Kende, A. S., Greenberg, E. P. & Iglewski, B. H. (1999). Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of Pseudomonas aeruginosa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(20), 11229-11234.
- Phuc Nguyen, M. C., Woerther, P. L., Bouvet, M., Andremont, A., Leclercq, R. & Canu, A. (2009). Escherichia coli as reservoir for macrolide resistance genes. *Emerg Infect Dis*, 15(10), 1648-1650. <https://doi.org/10.3201/eid1510.090696>
- Pitout, J. D. & Laupland, K. B. (2008). Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet infectious diseases*, 8(3), 159-166.

- Puzari, M., Sharma, M. & Chetia, P. (2018). Emergence of antibiotic resistant Shigella species: A matter of concern. *J Infect Public Health*, 11(4), 451-454. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.09.025>
- Qin, S., Wang, Y., Zhang, Q., Zhang, M., Deng, F., Shen, Z., ... Shen, J. (2014). Report of ribosomal RNA methylase gene erm(B) in multidrug-resistant Campylobacter coli. *J Antimicrob Chemother*, 69(4), 964-968. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt492>
- Queenan, A. M. & Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 20(3), 440-458, table of contents. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
- Rashid, R. A., Tarr, P. I. & Moseley, S. L. (2006). Expression of the Escherichia coli IrgA homologue adhesin is regulated by the ferric uptake regulation protein. *Microb Pathog*, 41(6), 207-217. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2006.07.006>
- Rawat, D. & Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of global infectious diseases*, 2(3), 263-274. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.68531>
- Rehm, B. H. A. (2008). *Pseudomonas: Model Organism, Pathogen, Cell Factory* (1. utg.) Wiley-Blackwell.
- Rigg, G. P., Barrett, B. & Roberts, I. S. (1998). The localization of KpsC, S and T, and KfiA, C and D proteins involved in the biosynthesis of the Escherichia coli K5 capsular polysaccharide - evidence for a membrane-bound complex. *Microbiology*, 144(10), 2905-2914. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-10-2905>
- Robin, F., Delmas, J., Schweitzer, C., Tournilhac, O., Lesens, O., Chanal, C. & Bonnet, R. (2007). Evolution of TEM-type enzymes: biochemical and genetic characterization of two new complex mutant TEM enzymes, TEM-151 and TEM-152, from a single patient. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(4), 1304-1309. <https://doi.org/10.1128/AAC.01058-06>
- Roche, A. J., McFadden, J. P. & Owen, P. (2001). Antigen 43, the major phase-variable protein of the Escherichia coli outer membrane, can exist as a family of proteins encoded by multiple alleles. *Microbiology*, 147(1), 161-169. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-1-161>
- Rodriguez-Martinez, J. M., Poirel, L. & Nordmann, P. (2009). Extended-spectrum cephalosporinases in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother*, 53(5), 1766-1771. <https://doi.org/10.1128/AAC.01410-08>

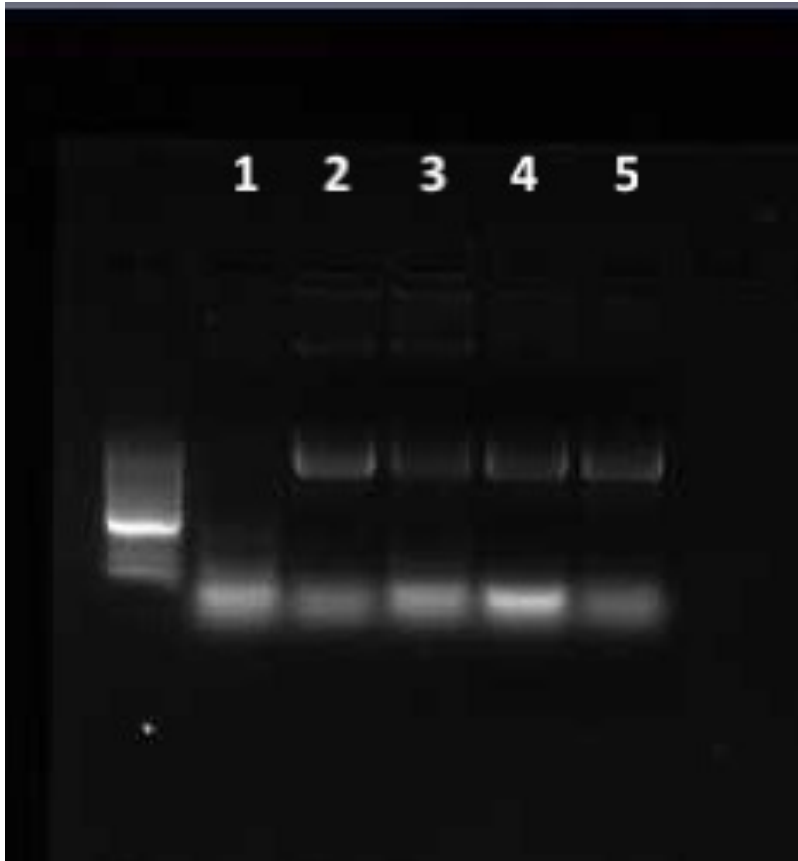
- Ruuskanen, M., Muurinen, J., Meierjohan, A., Parnanen, K., Tamminen, M., Lyra, C., ...
 Virta, M. (2016). Fertilizing with Animal Manure Disseminates Antibiotic Resistance
 Genes to the Farm Environment. *J Environ Qual*, 45(2), 488-493.
<https://doi.org/10.2134/jeq2015.05.0250>
- Sabri, M., Leveille, S. & Dozois, C. M. (2006). A SitABCD homologue from an avian
 pathogenic Escherichia coli strain mediates transport of iron and manganese and
 resistance to hydrogen peroxide. *Microbiology*, 152(Pt 3), 745-758.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.28682-0>
- Saint-Criq, V., Villeret, B., Bastaert, F., Kheir, S., Hatton, A., Cazes, A., ... Sallenave, J. M.
 (2018). Pseudomonas aeruginosa LasB protease impairs innate immunity in mice and
 humans by targeting a lung epithelial cystic fibrosis transmembrane regulator-IL-6-
 antimicrobial-repair pathway. *Thorax*, 73(1), 49-61. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-210298>
- Schwan, W. R., Beck, M. T., Hultgren, S. J., Pinkner, J., Woolever, N. L. & Larson, T.
 (2005). Down-regulation of the kps region 1 capsular assembly operon following
 attachment of Escherichia coli type 1 fimbriae to D-mannose receptors. *Infect Immun*,
 73(2), 1226-1231. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.2.1226-1231.2005>
- Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14),
 2068-2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Sethuvel, D. P. M., Perumalla, S., Anandan, S., Michael, J. S., Ragupathi, N. K. D.,
 Gajendran, R., ... Veeraraghavan, B. (2019). Antimicrobial resistance, virulence &
 plasmid profiles among clinical isolates of Shigella serogroups. *Indian J Med Res.*,
 149(2), 247-256. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_2077_17
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. & Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance
 and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi J
 Biol Sci*, 22(1), 90-101. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
- Sharma, A. K., Dhasmana, N., Dubey, N., Kumar, N., Gangwal, A., Gupta, M. & Singh, Y.
 (2017). Bacterial Virulence Factors: Secreted for Survival. *Indian J Microbiol*, 57(1),
 1-10. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0625-1>
- Simms, A. N. & Mobley, H. L. (2008). PapX, a P fimbrial operon-encoded inhibitor of
 motility in uropathogenic Escherichia coli. *Infect Immun*, 76(11), 4833-4841.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00630-08>
- Souza Lopes, A. C., Rodrigues, J. F., Cabral, A. B., da Silva, M. E., Leal, N. C., da Silveira,
 V. M. & de Moraes Junior, M. A. (2016). Occurrence and analysis of irp2 virulence

- gene in isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. from microbiota and hospital and community-acquired infections. *Microb Pathog*, *96*, 15-19.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.04.018>
- Springer, B., Kidan, Y. G., Prammananan, T., Ellrott, K., Bottger, E. C. & Sander, P. (2001). Mechanisms of streptomycin resistance: selection of mutations in the 16S rRNA gene conferring resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, *45*(10), 2877-2884.
<https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2877-2884.2001>
- Spurbeck, R. R., Dinh, P. C., Jr., Walk, S. T., Stapleton, A. E., Hooton, T. M., Nolan, L. K., ... Mobley, H. L. (2012). *Escherichia coli* isolates that carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* efficiently colonize the urinary tract. *Infect Immun*, *80*(12), 4115-4122.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00752-12>
- Stanley, T. L., Ellermeier, C. D. & Slauch, J. M. (2000). Tissue-Specific Gene Expression Identifies a Gene in the Lysogenic Phage Gifsy-1 That Affects *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Survival in Peyer's Patches. *Journal of Bacteriology*, *182*(16), 4406-4413. <https://doi.org/10.1128/jb.182.16.4406-4413.2000>
- Steinbakk, M., Sunde, M., Urdahl, A. M., Barkbu, K. N., Sørum, H., Lunestad, B., ... Bjørnholt, J. V. (2014). Antibiotikaresistens - kunnskapshull, utfordringer og aktuelle tiltak.
- Sturød, K., Dahle, U. R., Berg, E. S., Steinbakk, M. & Wester, A. L. (2014). Evaluation of the ability of four EBSL-screening media to detect ESBL-producing *Salmonella* and *Shigella*. *BMC Microbiology*, *14*(217). <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0217-3>
- Subedi, D., Vijay, A. K., Kohli, G. S., Rice, S. A. & Willcox, M. (2018). Comparative genomics of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from different geographic sites. *Sci Rep*, *8*(1), 15668. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34020-7>
- Sun, D. (2018). Pull in and Push Out: Mechanisms of Horizontal Gene Transfer in Bacteria. *Front Microbiol*, *9*, 2154. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02154>
- Sun, D., Jeannot, K., Xiao, Y. & Knapp, C. W. (2019). Editorial: Horizontal Gene Transfer Mediated Bacterial Antibiotic Resistance. *Front Microbiol*, *10*, 1933.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01933>
- Tam, V. H., Schilling, A. N., Melnick, D. A. & Coyle, E. A. (2005). Comparison of beta-lactams in counter-selecting resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, *52*(2), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.02.010>
- Tanner, W. D., VanDerslice, J. A., Goel, R. K., Leecaster, M. K., Fisher, M. A., Olstadt, J., ... Gundlapalli, A. V. (2019). Multi-state study of Enterobacteriaceae harboring

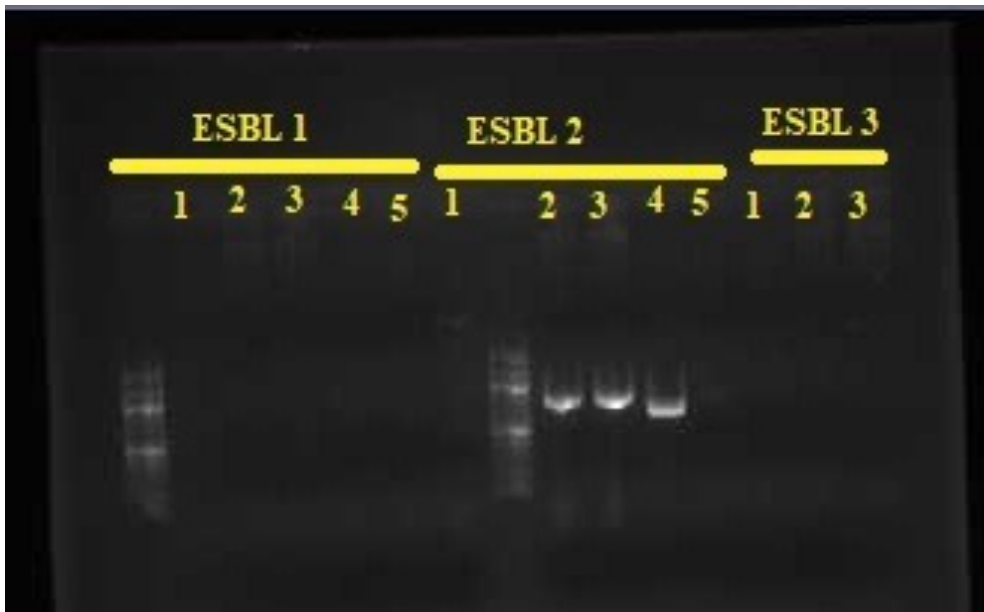
- extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase genes in U.S. drinking water. *Sci Rep*, 9(1), 3938. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40420-0>
- Tchesnokova, V., Radey, M., Chattopadhyay, S., Larson, L., Weaver, J. L., Kisiela, D. & Sokurenko, E. V. (2019). Pandemic fluoroquinolone resistant *Escherichia coli* clone ST1193 emerged via simultaneous homologous recombinations in 11 gene loci. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 116(29), 14740-14748. <https://doi.org/10.1073/pnas.1903002116>
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2009). NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer - V1.0 User Manual. Hentet 13.05 2020
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2010a). Brilliance™ ESSL. Hentet 13.05 2020
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2010b). Qubit® 2.0 Fluorometer. Hentet 13.05 2020 fra https://www.mbl.edu/jbpc/files/2014/05/Qubit2_Fluorometer_UserManual.pdf
- Thorsnæs, G. & Askheim, S. (2020). Ås. Hentet 30.05 2020 fra <https://snl.no/%C3%85s>
- Upadhyay, S., Mishra, S., Sen, M. R., Banerjee, T. & Bhattacharjee, A. (2013). Co-existence of *Pseudomonas*-derived cephalosporinase among plasmid encoded CMY-2 harbouring isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in north India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 31(3), 257-260.
- Valencia, C. A., Pervaiz, M. A., Husami, A., Qian, Y. & Zhang, K. (2013). *Next Generation Sequencing Technologies in Medical Genetics* Springer, New York, NY.
- van Duin, D. & Paterson, D. L. (2016). Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned. *Infect Dis Clin North Am*, 30(2), 377-390. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.004>
- Vann, W. F., Daines, D. A., Murkin, A. S., Tanner, M. E., Chaffin, D. O., Rubens, C. E., ... Silver, R. P. (2004). The NeuC protein of *Escherichia coli* K1 is a UDP N-acetylglucosamine 2-epimerase. *J Bacteriol*, 186(3), 706-712. <https://doi.org/10.1128/jb.186.3.706-712.2004>
- Vazelle, E., Chassaing, B., Buisson, A., Dubois, A., de Vallee, A., Billard, E., ... Bringer, M. A. (2016). GipA Factor Supports Colonization of Peyer's Patches by Crohn's Disease-associated *Escherichia Coli*. *Inflamm Bowel Dis*, 22(1), 68-81. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000609>
- Ventola, C. L. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis - Part 1: Causes and Threats. *P&T*, 40(4), 277-283.
- Vieira, P. C. G., Espinoza-Culupu, A. O., Nepomuceno, R., Alves, M. R., Lebrun, I., Elias, W. P. & Ruiz, R. C. (2020). Secreted autotransporter toxin (Sat) induces cell damage

- during enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *PLoS One*, 15(2), e0228959.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228959>
- Vila, J., Saez-Lopez, E., Johnson, J. R., Romling, U., Dobrindt, U., Canton, R., ... Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev*, 40(4), 437-463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>
- Villa, L., Guerra, B., Schmoger, S., Fischer, J., Helmuth, R., Zong, Z., ... Carattoli, A. (2015). IncA/C Plasmid Carrying bla(NDM-1), bla(CMY-16), and fosA3 in a *Salmonella enterica* Serovar Corvallis Strain Isolated from a Migratory Wild Bird in Germany. *Antimicrob Agents Chemother*, 59(10), 6597-6600.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00944-15>
- Wang, J. & Liu, J. H. (2004). Mutations in the chloramphenicol acetyltransferase (S61G, Y105C) increase accumulated amounts and resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett*, 236(2), 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.05.037>
- Waseem, H., Williams, M. R., Stedtfeld, R. D. & Hashsham, S. A. (2017). Antimicrobial Resistance in the Environment. *Water Environ Res*, 89(10), 921-941.
<https://doi.org/10.2175/106143017X15023776270179>
- Westermeier, R. (2005). Gel Electrophoresis. I *eLS*.
- White, P. A., Stokes, H. W., Bunny, K. L. & Hall, R. M. (1999). Characterisation of a chloramphenicol acetyltransferase determinant found in the chromosome of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters*, 175(1), 27-35.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13598.x>
- World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Hentet 01.06 2020 fra
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=745833FA899BEEEF8BDDDA4C8B4C1CA0?sequence=1
- World Health Organization. (2015). Antimicrobial Resistance: An Emerging Water, Sanitation and Hygiene Issue, 14.
- World Health Organization. (2018, 05.02.2018). Antibiotic Resistance. Hentet 01.06 2020 fra
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Xu, Y., Bai, X., Jin, Y., Hu, B., Wang, H., Sun, H., ... Xiong, Y. (2017). High Prevalence of Virulence Genes in Specific Genotypes of Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Front Cell Infect Microbiol*, 7, 109. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00109>
- Yang, K., Wang, A., Fu, M., Wang, A., Chen, K., Jia, Q. & Huang, Z. (2020). Investigation of Incidents and Trends of Antimicrobial Resistance in Foodborne Pathogens in Eight

- Countries from Historical Sample Data. *Int J Environ Res Public Health*, 17(2).
<https://doi.org/10.3390/ijerph17020472>
- Yazdankhah, S., Lassen, J., Midtvedt, T. & Solberg, C. O. (2013). Historien om antibiotika.
- Yu, M., Cao, Y. & Ji, Y. (2017). The principle and application of new PCR Technologies. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 100. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/100/1/012065>
- Zaman, S. B., Hussain, M. A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K. T. & Hossain, N. (2017). A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus*, 9(6), e1403.
<https://doi.org/10.7759/cureus.1403>
- Zaw, M. T., Yamasaki, E., Yamamoto, S., Nair, G. B., Kawamoto, K. & Kurazono, H. (2013). Uropathogenic specific protein gene, highly distributed in extraintestinal uropathogenic Escherichia coli, encodes a new member of H-N-H nuclease superfamily. *Gut Pathogens*, 5(13). <https://doi.org/10.1186/1757-4749-5-13>
- Zeng, L. & Jin, S. (2003). aph(3')-IIb, a gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, is under the positive control of surrogate regulator HpaA. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(12), 3867-3876. <https://doi.org/10.1128/aac.47.12.3867-3876.2003>
- Zhang, M., He, L. Y., Liu, Y. S., Zhao, J. L., Liu, W. R., Zhang, J. N., ... Ying, G. G. (2019). Fate of veterinary antibiotics during animal manure composting. *Sci Total Environ*, 650(Pt 1), 1363-1370. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.147>



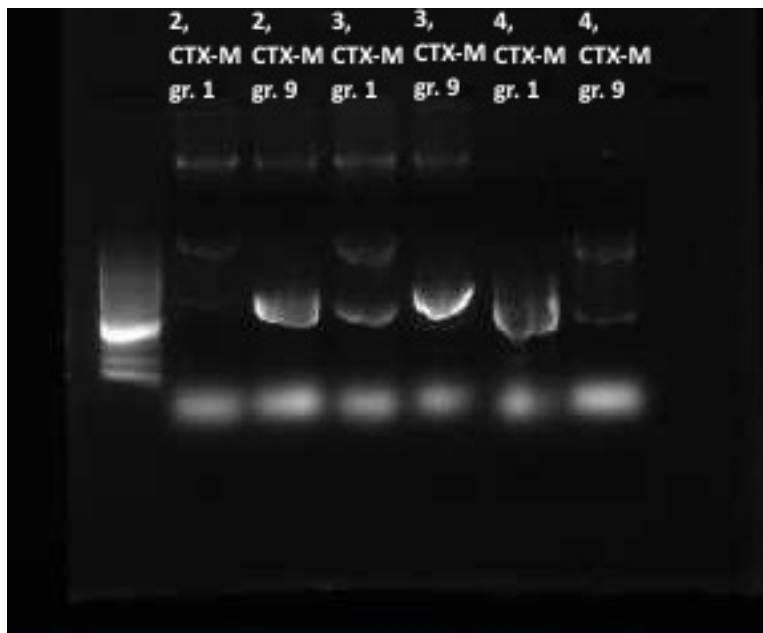
Figur 1: Gelbilde av 16S rRNA for alle prøvene.



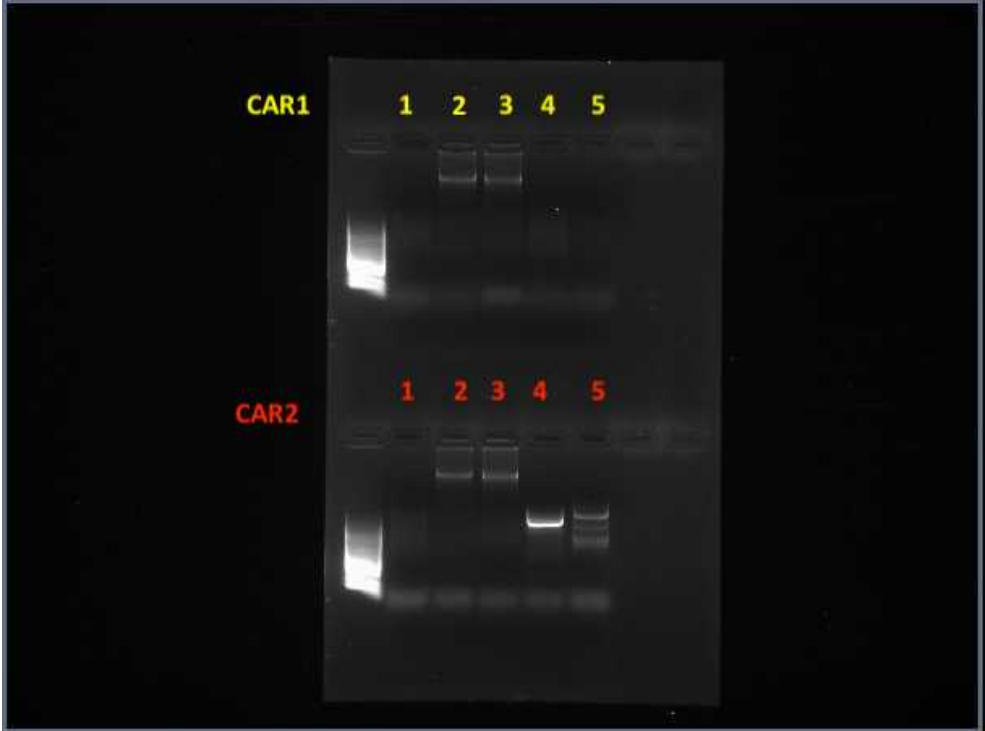
Figur 2: Gelbilde av multipleks PCR ESBL 1 og 2 for alle prøvene og ESBL 3 for prøve 1-3.



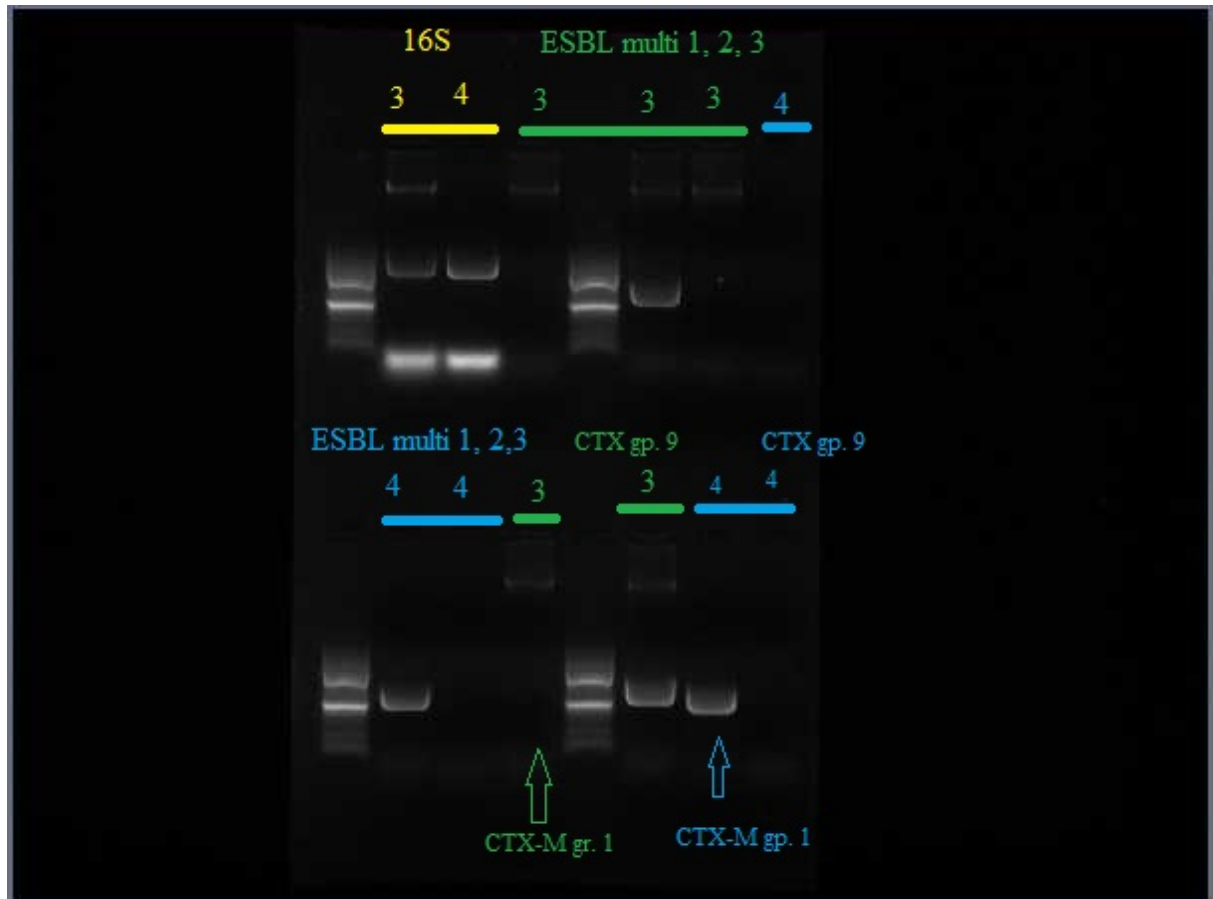
Figur 3: Gelbilde av multipleks PCR ESBL 3 for prøve 4 og 5.



Figur 4: Gelbilde av singlepleks PCR ESBL 2 med $bla_{CTX-M (gr. 1)}$ og $bla_{CTX-M (gr. 9)}$ som målgen for prøve 2, 3 og 4.



Figur 5: Gelbilde av multipleks PCR CAR 1 og 2 for alle prøvene.



Figur 6: Gelbilde av multipleks PCR ESBL 1-3 og singelpleks PCR med $bla_{CTX-M (gr. 1)}$ og $bla_{CTX-M (gr. 9)}$ som målgen for prøve 3 og 4 som måtte gjøres på nytt grunnet forveksling av prøvene.

Tabell 1: Bakterieslekter, -arter og -stammer funnet i BLAST etter søk med 16S rRNA-sekvensene.

| Prøve | Konsentrasjon før innsending (ng/ml) | Bakterieidentitet i nBLAST | Identitetsscore (%) i nBLAST | «Query»-lengde |
|-------|--------------------------------------|---|----------------------------------|----------------|
| 1 | 20,9 | - | - | - |
| 2 | 75,1 | - | - | - |
| 3 | 53,9 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> stamme DSM 50071 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> stamme NBRC 12689 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> stamme ATCC 10145 | 99,45 99,45 99,45 | 1086 |
| 4 | 54,2 | <i>Escherichia fergusonii</i> stamme ATCC 35469 <i>Shigella flexneri</i> stamme ATCC 29903 <i>Shigella sonnei</i> stamme CECT 4887 | 99,13 99,13 99,04 | 1140 |
| 5 | 81,9 | <i>Pseudomonas koreensis</i> stamme Ps 9-14 <i>Pseudomonas reinekei</i> stamme MT1 <i>Pseudomonas moraviensis</i> stamme 1B4 <i>Pseudomonas vancouverensis</i> stamme DhA-51 | 99,82 99,37 99,37 99,28 | 1117 |

Tabell 2: Resistensgener funnet i BLAST ved søk på singelpleks PCR-produktene.

| Prøve | Konsentrasjon før innsending (ng/ml) | Proteinidentitet i blastx | Identitetsscore (%) i blastx | «Query»- lengde |
|-------|--|--|---------------------------------|--------------------|
| 2 | 3,89 | - | - | - |
| 3 | 45,4 | - | - | - |
| 4 | 49,4 | Klasse A betalaktamase (<i>Klebsiella variicola</i>) | 100 | 643 |
| | | Klasse A betalaktamase (<i>Serratia marcescens</i>) | 100 | |
| | | Klasse A betalaktamase (<i>Klebsiella pneumoniae</i>) | 100 | |
| | | Klasse A ESBL CTX-M- 216 (<i>Escherichia coli</i>) | 100 | |

Tabell 1: Virulens- og resistensgener identifisert i prøve 3 og 4 ved søk i nBLAST med Prof. Bjørn-Arne Lindstedts upubliserte søke-«pipeline». Dette var hovedsakelig knyttet til virulensgener men enkelte resistensgener ble også funnet.

| Gene/Marker name | Accession number | Comment | % nucleotide match | Coverage | Contig ID | Location |
|------------------|------------------|---|--------------------|-------------|--|---------------|
| Prøve 3 | | | | | | |
| fptA | PAU03161 | Pyochelin receptor. In the Gram-negative bacterium <i>Pseudomonas aeruginosa</i> iron is acquired with two endogenous siderophores, pyoverdine and pyochelin , which both contribute to the virulence of this opportunistic human pathogen | 99.31 | 2163 / 2163 | contig00027 len=64501 cov=31.0 corr=0 origname=NODE_27_length_64501_cov_30.972302 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 57645.59807 |
| lasB | CP029090 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LasB Subverts Alveolar Macrophage Activity by Interfering With Bacterial Killing Through Downregulation of Innate Immune Defense, Reactive Oxygen Species Generation, and Complement Activation. doi: 10.3389/fimmu.2018.01675 | 98.46 | 1497 / 1497 | contig00002 len=721143 cov=27.0 corr=0 origname=NODE_2_length_721143_cov_26.974675 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 142973.144469 |

| | | | | | | |
|-------|--------------|--|-----------|-------------|---|------------------------|
| merA1 | NC_012690 | MerA protein of mer operon in mercury resistant bacteria influences transformation of Hg2+ to Hg0. | 83.2 | 494 / 543 | contig00014 len=141433 cov=21.4 corr=0 origname=NODE_14_length_141433_cov_21.357664 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 13056 4..131 056 |
| ndvB | CGFY01000068 | Multiple physical and physiological factors contribute to the increased antibiotic resistance of P. aeruginosa biofilms compared to free-living planktonic cultures, including reduced penetration of the antibiotic through the extracellular matrix and the presence of persister cells. Biofilm resistance is also mediated by several genetic mechanisms that are specifically expressed in biofilms but not in exponential-phase planktonic cells. One of these mechanisms requires the gene ndvB , which encodes a glucosyltransferase enzyme that catalyzes the synthesis of periplasmic β -(1→3)-cyclic glucans. The glucans are thought to promote | 99.3 1 | 2610 / 2610 | contig00007 len=296631 cov=24.2 corr=0 origname=NODE_7_length_296631_cov_24.158730 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 21619. .24228 |

| | | | | | | |
|----------------|-----------|--|-------|-------------|---|----------------|
| | | aminoglycoside resistance by sequestering antibiotics in the periplasm away from their cellular target. doi: 10.1128/AEM.02762-17 | | | | |
| pfeA | NC_002516 | Enterobactin gene | 99.51 | 2241 / 2241 | contig00001 len=814383 cov=24.5 corr=0 origname=NODE_1_length_814383_cov_24.518473 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 235925..238165 |
| toxA | CP006832 | Exotoxin A (toxA) is an important virulence factor of P. aeruginosa in clinical infections. It is a cytotoxic agent that, similar to diphtheria toxin, inhibits protein biosynthesis at the level of polypeptide chain elongation factor 2, leading to great tissue and organ damage | 99.27 | 1917 / 1917 | contig00010 len=188219 cov=25.6 corr=0 origname=NODE_10_length_188219_cov_25.640899 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 2585..4501 |
| Prøve 4 | | | | | | |
| AcrA | NC_000913 | Multidrug efflux pump subunit AcrA | 99.16 | 1194 / 1194 | contig00008 len=210541 cov=33.5 corr=0 origname=NODE_8_length_210541_cov_33.456277 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 70003..71196 |
| acs | NC_000913 | Acetyl-coenzyme A synthetase. APEC acs-yjcH-actP operon, encoding | 97.04 | 1959 / 1959 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 81409..83367 |

| | | | | | | |
|------------|----------------|---|-------|-------------|---|---------------|
| | | acetate assimilation system, presented the host-induced transcription during its proliferation in macrophages. | | | | |
| actP | NC_000913 | Cation/acetate symporter ActP. APEC acs-yjch-actP operon, encoding acetate assimilation system, presented the host-induced transcription during its proliferation in macrophages. | 95.76 | 1650 / 1650 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 84061.85710 |
| aec77 | AJ617685 | YeeW-like protein | 99.8 | 489 / 489 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1441.1929 |
| aer | NC_011751 | Aerotaxis receptor | 98.22 | 1521 / 1521 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 147054.148574 |
| AmpC | BA000007 | AmpC β -lactamases (also termed class C or group 1) are typically encoded on the chromosome of many Gram-negative bacteria | 99.82 | 1134 / 1134 | contig00012 len=140204 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_12_length_140204_cov_37.738879 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 124091.125224 |
| antigen-43 | NZ_ANXM0100041 | A self-recognizing adhesin that is associated with cell aggregation and biofilm formation in E. coli. | 99.43 | 2438 / 3120 | contig00054 len=4657 cov=37.9 corr=0 origname=NODE_54_length_4657_cov_37.889625 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1.2438 |
| antigen-43 | NZ_BGJU0100062 | A self-recognizing adhesin that is associated with cell aggregation and biofilm formation in E. coli. | 96.3 | 2165 / 2847 | contig00005 len=241261 cov=30.8 corr=0 origname=NODE_5_length_241261_cov_30.751400 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 239097.241261 |

| | | | | | | |
|--|-----------|---|----------|-------------|---|---------------|
| APEC O1 conserved protein (APEC O1_2080) | CP000468 | APEC O1 conserved protein from CP000468 | 97.5 / 5 | 2202 / 2202 | contig00003 len=352298 cov=36.0 corr=0 origname=NODE_3_length_352298_cov_36.005591 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 57295.59496 |
| arnC | NC_000913 | Undecaprenyl-phosphate 4-deoxy-4-formamido-L-arabinose transferase | 97.7 / 3 | 969 / 969 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 551061.552029 |
| asl (Arylsulfatase) | CU928163 | Arylsulfatase | 98.3 / 1 | 1656 / 1656 | contig00016 len=112968 cov=40.2 corr=0 origname=NODE_16_length_112968_cov_40.184383 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 36443.38098 |
| atoC | NC_011751 | Member of the two-component regulatory system AtoS/AtoC | 98.4 / 1 | 1386 / 1386 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 505804.507189 |
| atoE | NC_011751 | Short chain fatty acid transporter [Escherichia coli UMN026], positive in EPEC1 and negative in EPEC2 | 97.8 / 8 | 1323 / 1323 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 508694.510016 |
| atoS | NC_011751 | Member of the two-component regulatory system AtoS/AtoC | 98.4 / 7 | 1827 / 1827 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 503981.505807 |
| bcr | CP027060 | Bicyclomycin resistance protein | 96.3 / 1 | 1191 / 1191 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 466228.467418 |
| bcsA (cellulose synthase) | CP006632 | Catalytically active subunit of cellulose synthase (Biofilm related) | 96.9 / 6 | 1347 / 1347 | contig00017 len=111758 cov=41.6 corr=0 origname=NODE_17_length_111758_cov_41.637287 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 84978.86324 |
| BlaAMPH | AP012030 | A weak beta-lactamase | 97.2 / 4 | 1158 / 1158 | contig00008 len=210541 cov=33.5 corr=0 origname=NODE_8_length_210541_cov_33.456277 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 163128.164285 |
| c0426/upaB | AE014075 | An autotransporter that is known to contribute to uropathogenic E. coli | 98.0 / 7 | 2337 / 2331 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 106498.108828 |

| | | | | | | |
|------------------------------------|-----------|---|-------|-------------|---|----------------|
| | | (UPEC) colonisation of the urinary tract. | | | | |
| c0478/upaC | AE014075 | Autotransporter (AT) adhesin from UPEC strain CFT073 | 99.93 | 2988 / 2988 | contig00008 len=210541 cov=33.5 corr=0 origname=NODE_8_length_210541_cov_33.456277 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 164995..167982 |
| c3029 | NC_004431 | Ribosome association toxin RatA-like gene | 99.76 | 8052 / 8052 | contig00005 len=241261 cov=30.8 corr=0 origname=NODE_5_length_241261_cov_30.751400 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 90891..98942 |
| c4485 | NC_004431 | UPEC-specific gene identified using CGH and in silico BSR analysis of ten UPEC and four fecal/commensal strains. doi: 10.1128/JB.01744-06 | 99.63 | 1092 / 1092 | contig00020 len=75175 cov=42.4 corr=0 origname=NODE_20_length_75175_cov_42.393735 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 10184..11275 |
| c4759 | NC_004431 | Transketolase 1. doi: 10.1128/JB.01744-06 | 99.15 | 1998 / 1998 | contig00016 len=112968 cov=40.2 corr=0 origname=NODE_16_length_112968_cov_40.184383 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 76055..78052 |
| cadA (lysine decarboxylase) | CP025573 | Inducible lysine decarboxylase | 99.02 | 2148 / 2148 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 6871..9018 |
| cheW | CP027060 | Chemotaxis protein | 99.01 | 504 / 504 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 94896..95399 |
| cheY | CP028306 | Chemotaxis protein | 98.97 | 390 / 390 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 90483..90872 |
| ChuA | LT827011 | Outer membrane hemin receptor | 99.5 | 1983 / 1983 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 16992..18974 |
| cirA | CP030337 | Outer membrane receptor for colicins IA and IB | 99.42 | 1026 / 1026 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 433597..434622 |

| | | | | | | |
|--------------|---------------|---|-----------|-------------|--|------------------------|
| cjrc | NC_0117 49 | Outer membrane colicin Js receptor. Colicin Js is a polypeptide toxin (molecular mass, 10.4 kDa) originally identified as a product of Shigella sonnei. Compared to other colicins, colicin Js has a unique antimicrobial spectrum, being active only on enteroinvasive serotypes of E.coli and Shigella strains. | 100 | 2262 / 2262 | contig00042 len=10524 cov=16.7 corr=0 origname=NODE_42_length_10524_cov_16.659656 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 6072.. 8333 |
| ECSE_RS24525 | NC_0114 19 | Colicin-1A immunity protein | 99.7 | 336 / 336 | contig00042 len=10524 cov=16.7 corr=0 origname=NODE_42_length_10524_cov_16.659656 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1458.. 1793 |
| copA | AE01407 5 | Copper-exporting P-type ATPase | 98.9 2 | 2505 / 2505 | contig00008 len=210541 cov=33.5 corr=0 origname=NODE_8_length_210541_cov_33.456277 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 44288.. .46792 |
| csgA | CP00024 7 | curli fimbriae gene | 100 | 459 / 459 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48330 5..483 763 |
| csgB | CP00024 3 | curli fimbriae gene | 99.5 9 | 483 / 483 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48278 2..483 264 |
| csgE | NC_0117 50 | curli fimbriae gene | 98.4 6 | 390 / 390 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48101 2..481 401 |
| csgF | NC_0117 50 | curli fimbriae gene | 97.6 | 417 / 417 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48057 1..480 987 |

| | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|---|-----------|----------------|---|------------------------|
| csgG | LT90384 7 | curli fimbriae gene | 99.7 6 | 834 / 834 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 47971 1..480 544 |
| CTX-M-15 | KF05540 2 | An extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) | 100 | 876 / 876 | contig00064 len=3522 cov=87.4 corr=0 origname=NODE_64_length_3522_cov_87.354639 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 943..1 818 |
| cusA | NZ_NM MD0100 0001 | Part of a cation efflux system that mediates resistance to copper and silver. | 97.6 5 | 3144 / 3144 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 13458. .16601 |
| CvaA-colicin V secretion protein | GG77355 3 | Involved, in conjunction with CvaB, in the secretion of colicin V. | 98.5 5 | 1242 / 1242 | contig00024 len=41579 cov=38.9 corr=0 origname=NODE_24_length_41579_cov_38.884493 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 8950.. 10191 |
| ecotin | CP02526 8 | General inhibitor of pancreatic serine proteases | 97.1 4 | 419 / 419 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48846 4..488 882 |
| ecpA (common pilus) | BA00000 7 | common pilus gene | 98.4 7 | 588 / 588 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 81674. .82261 |
| ecpB (common pilus) | NZ_QO ON01000 045 | common pilus gene | 98.0 6 | 669 / 669 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 80949. .81617 |
| ecpD (common pilus) | CP01977 7 | common pilus gene | 99.7 6 | 1644 / 1644 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 76765. .78408 |
| ehaC | BA00000 7 | EHEC autotransporter C | 96.2 4 | 3754 / 3753 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 52435 5..528 107 |
| elfC | CP02128 8 | Outer membrane usher protein | 99.8 1 | 2595 / 2595 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 10112 9..103 723 |

| | | | | | | |
|------------------------------------|-----------|---|-------|-----------|---|------------------|
| entA | CP027060 | enterobactin biosynthesis and transportation | 95.45 | 747 / 747 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 53234. .53980 |
| entE | CP027060 | enterobactin biosynthesis and transportation | 95.72 | / 1611 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 50753. .52363 |
| evfA | JN837480 | Putative T6SS gene of the evf cluster (E. coli virulence factors) | 99.58 | 480 / 480 | contig00027 len=31542 cov=35.8 corr=0 origname=NODE_27_length_31542_cov_35.810377 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 9922.. 10401 |
| evfC (macrophage toxin) | JN837480 | Putative T6SS gene of the evf cluster (E. coli virulence factors) | 99.07 | / 3018 | contig00027 len=31542 cov=35.8 corr=0 origname=NODE_27_length_31542_cov_35.810377 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 11788. .14805 |
| evfQ | JN837480 | Putative T6SS gene of the evf cluster (E. coli virulence factors) | 99.95 | / 1842 | contig00027 len=31542 cov=35.8 corr=0 origname=NODE_27_length_31542_cov_35.810377 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 25243. .27084 |
| fdeC (intimin-like protein) | CP019777 | FdeC (factor adherence E. coli) able to mediate E. coli adhesion to mammalian cells and extracellular matrix. | 99.65 | / 4251 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 92179. .96429 |
| fecA | NC_011751 | Outer membrane ferri-siderophore receptor, an E. coli 83972 isolate during deliberate bladder colonization lost genes for the aerobactin siderophore system, which is immunogenic, while expression of the ferric citrate receptor FecA was upregulated | 99.78 | / 2325 | contig00034 len=18613 cov=38.2 corr=0 origname=NODE_34_length_18613_cov_38.196094 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 11225. .13549 |

| | | | | | | |
|------|-----------|---|-------|-------------|--|------------------------|
| fecA | NC_011751 | Outer membrane ferri-siderophore receptor, an E. coli 83972 isolate during deliberate bladder colonization lost genes for the aerobactin siderophore system, which is immunogenic, while expression of the ferric citrate receptor FecA was upregulated | 99.78 | 2325 / 2325 | contig00034 len=18613 cov=38.2 corr=0 origname=NODE_34_length_18613_cov_38.196094 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 11225. .13549 |
| feoB | CP019777 | Fe(2+) transporter | 98.58 | 2322 / 2322 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 13001 8..132 339 |
| fepA | CP000468 | Ferrienterobactin receptor | 99.59 | 1945 / 1947 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 35419. .37363 |
| fepB | AE014075 | Ferrienterobactin-binding periplasmic protein | 99.79 | 957 / 957 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48423. .49379 |
| fepC | AE014075 | Predicted ATP-binding subunit of a ferric enterobactin ABC transporter | 99.39 | 816 / 816 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 44253. .45068 |
| fepD | AE014075 | Ferric enterobactin (Enterochelin) transport | 99.51 | 1017 / 1017 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 46054. .47070 |
| fepE | AE014075 | Ferric enterobactin transport protein | 95.15 | 1134 / 1134 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 43123. .44256 |

| | | | | | | |
|-------------------------------|---------------|--|-----------|----------------|---|------------------------|
| fepG | CP02557 3 | Ferric enterobactin transport system permease protein | 99.8 | 993 / 993 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 45065. .46057 |
| fes | CP02706 0 | Enterochelin esterase | 96.3 6 | 1125 / 1125 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 37684. .38808 |
| EcSMS35_3916 | NC_0104 98 | Fic family protein, positive in EPEC1 absent from EPEC2 | 99.8 5 | 1296 / 1296 | contig00017 len=111758 cov=41.6 corr=0 origname=NODE_17_length_111758_cov_41.637287 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 20161. .21456 |
| fiu | CP02382 0 | Catecholate siderophore receptor | 96.7 1 | 2283 / 2283 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 24429 9..246 581 |
| flgD | CP02706 0 | Basal-body rod modification protein | 96.5 5 | 696 / 696 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 51071 7..511 412 |
| flgM | CP02819 2 | Negative regulator of flagellin synthesis | 98.3 | 294 / 294 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 50869 8..508 991 |
| fmlA (F9-fimbriae) | BA00000 7 | F9 Fimbriae of Uropathogenic Escherichia coli Are Expressed at Low Temperature. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093177 | 96.8 1 | 564 / 564 | contig00025 len=37497 cov=27.6 corr=0 origname=NODE_25_length_37497_cov_27.565347 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 21894. .22457 |
| fsr (Fosmidomycin resistance) | CP02706 0 | Fosmidomycin resistance protein | 97.9 5 | 1221 / 1221 | contig00008 len=210541 cov=33.5 corr=0 origname=NODE_8_length_210541_cov_33.456277 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 51046. .52266 |
| fyuA | CP01682 8 | The ferric yersiniabactin uptake receptor | 99.7 5 | 2022 / 2022 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 22569 6..227 717 |

| | | | | | | |
|------------------------|-----------------|--|----------------|-------------------|---|-----------------------|
| gipA | NC_0176 34 | One particular gene that contributes to AIEC's ability to survive and replicate inside macrophages is gipA | 99.9 / 1 | 1131 / 1131 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 21205 9.213 189 |
| gspD (Shigella) | NC_0076 06 | Type II secretion system protein | 96.0 / 6 | 1851 / 1836 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 26302. .28152 |
| Hemolysin-III | CP00303 4 | Inner membrane protein, hemolysin III family gene | 99.5 / 7 | 690 / 690 | contig00004 len=323422 cov=35.3 corr=0 origname=NODE_4_length_323422_cov_35.309228 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 25655 3.257 242 |
| hmuR | AJ58688 7 | Putative outer membrane heme/hemoglobin receptor | 97.2 / 6 | 1971 / 1971 | contig00058 len=4060 cov=18.5 corr=0 origname=NODE_58_length_4060_cov_18.516908 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1698.. 3668 |
| hutX | NZ_CP0 23820 | Cytoplasmic Heme-Binding Protein, heme utilization cystosolic carrier protein HutX | 95.3 / 5 | 495 / 495 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 13530. .14024 |
| ibeB | AF09482 4 | Invasion protein | 98.1 / 2 | 1383 / 1383 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 10469. .11851 |
| ibeC | CP01977 7 | Invasion protein | 99.7 / 7 | 1734 / 1734 | contig00015 len=118791 cov=39.7 corr=0 origname=NODE_15_length_118791_cov_39.666698 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 95305. .97038 |
| iha | CP01895 7 | The IrgA homologue adhesin Iha is an Escherichia coli virulence factor in murine urinary tract infection. | 99.7 / 5 | 2010 / 2010 | contig00045 len=8150 cov=38.1 corr=0 origname=NODE_45_length_8150_cov_38.082139 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 811.. 820 |
| imm | NC_0135 89 | colicin E1 immunity protein | 99.7 | 336 / 336 | contig00042 len=10524 cov=16.7 corr=0 origname=NODE_42_length_10524_cov_16.659656 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1458.. 1793 |

| | | | | | | |
|------------------|-----------|--|----------|-------------|--|----------------|
| pEC14_8 | NC_013175 | High affinity Fe+2 binding protein permease component | 99.9 / 5 | 1941 / 1941 | contig00041 len=11455 cov=15.7 corr=0 origname=NODE_41_length_11455_cov_15.670109 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 2170..4110 |
| irp1 | CU928163 | Yersiniabactin biosynthetic protein, part of the HPI (High Pathogenicity Island). | 99.2 / 7 | 9493 / 9492 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 212596..222087 |
| irp2 | CP006834 | Yersiniabactin biosynthetic protein. The irp2 and fyuA genes in High Pathogenicity Islands are involved in the pathogenesis of infections caused by avian pathogenic Escherichia coli (APEC) | 98.8 / 7 | 6106 / 6108 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 206402..212506 |
| IS26-transposase | AP018456 | IS26 transposase from Escherichia coli O25b:H4-ST131 plasmid | 100 | 705 / 705 | contig00094 len=820 cov=64.0 corr=0 origname=NODE_94_length_820_cov_63.976912 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 64..768 |
| iucA | CU928163 | Part of Aerobactin siderophore | 99.4 / 4 | 1788 / 1788 | contig00039 len=14956 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_39_length_14956_cov_37.731337 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1753..3540 |
| iucB | AE014075 | Part of Aerobactin siderophore | 99.4 | 668 / 668 | contig00039 len=14956 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_39_length_14956_cov_37.731337 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 3821..4488 |
| iucC | AE014075 | Part of Aerobactin siderophore | 98.1 / 6 | 1742 / 1742 | contig00039 len=14956 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_39_length_14956_cov_37.731337 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 4489..6230 |
| iucD | CP001232 | Part of Aerobactin siderophore | 99.8 / 4 | 1278 / 1278 | contig00039 len=14956 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_39_length_14956_cov_37.731337 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 6227..7504 |
| iutA | CP011134 | Ferric aerobactin receptor | 99.9 / 5 | 2202 / 2202 | contig00039 len=14956 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_39_length_14956_cov_37.731337 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 7586..9787 |

| | | | | | | |
|--------------------------------|------------------|---|-----------|--------------|---|------------------------|
| ivy | CP02526 8 | Inhibitor of vertebrate lysozyme | 98.1 | 474 / 474 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 7303.. 7776 |
| kpsC | AWDO0 1000031 | Capsule polysaccharide export protein | 96.7 5 | / 2028 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 6484.. 8511 |
| kpsD | NC_0079 46 | Capsule transport protein | 99.0 5 | / 1677 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 4061.. 5737 |
| kpsS | CP00663 2 | Capsule polysaccharide export protein | 97.0 1 | / 1188 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 8546.. 9717 |
| malX | AF00374 2 | Pathogenicity Island Marker | 98.6 1 | / 1581 | contig00004 len=323422 cov=35.3 corr=0 origname=NODE_4_length_323422_cov_35.309228 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 17101 8..172 598 |
| matD | HM1023 65 | Predicted outer membrane protein associated with E. coli common pilus (ECP) formation in pathogenic E. coli strains | 99.7 2 | / 2526 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 78398.. .80923 |
| MBL-fold metallo- hydrolase | CP02338 8 | Candidate phylogroup B2 specific marker | 99.9 | / 1044 | contig00004 len=323422 cov=35.3 corr=0 origname=NODE_4_length_323422_cov_35.309228 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 53971.. .55014 |
| mdfA | Y08743 | Multidrug transporter | 97.8 9 | / 1233 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 28711 9..288 351 |
| mdtH | CP01977 7 | Multidrug resistance protein | 99.4 2 | / 1209 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 50298 1..504 189 |
| MphA | DQ44527 0 | Macrolide resistance | 100 | 903 / 906 | contig00061 len=3813 cov=15.1 corr=0 origname=NODE_61_length_3813_cov_15.132393 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 196..1 098 |

| | | | | | | |
|-------------------------|---------------|--|-----------|----------------|--|------------------------|
| mviM | CU92816 4 | Putative virulence factor | 97.0 8 | 924 / 924 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 50566 9..506 592 |
| neuB | NC_0117 50 | Sialic acid synthase, K1- capsule | 100 | 1041 / 1041 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 14689. .15729 |
| neuC | CP00303 4 | UDP N-Acetylglucosamine 2-Epimerase, K1-capsule | 100 | 1176 / 1176 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 12261. .13436 |
| nikA | CU92816 3 | Nickel-binding periplasmic protein | 98.4 1 | 1575 / 1575 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 45252. .46826 |
| nlpD-lipoprotein | NC_0176 34 | NlpD links cell wall remodeling and outer membrane invagination during cytokinesis in Escherichia coli | 99.9 1 | 1140 / 1140 | contig00004 len=323422 cov=35.3 corr=0 origname=NODE_4_length_323422_cov_35.309228 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 57023. .58162 |
| ompA | CP02706 0 | Outer membrane protein A | 97.6 | 1041 / 1041 | contig00002 len=564223 cov=28.8 corr=0 origname=NODE_2_length_564223_cov_28.807458 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 41170 0..412 740 |
| papA | AP01878 4 | Pyelonephritis-associated pili (pap). Pap fimbrial major pilin protein. Strains of E.coli that cause infection of the human urinary tract produce pap- pili which are hair-like appendages consisting of about 1000 helically arranged subunits of the protein PapA. | 100 | 270 / 270 | contig00044 len=8564 cov=38.8 corr=0 origname=NODE_44_length_8564_cov_38.782387 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 8197.. 8466 |

| | | | | | | |
|-------------------|---------------|--|-----------|----------------|--|------------------------|
| papI | CU92816 4 | Pap operon regulatory protein PapI | 99.5 7 | 234 / 234 | contig00044 len=8564 cov=38.8 corr=0 origname=NODE_44_length_8564_cov_38.782387 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 6739.. 6972 |
| papX | CP02525 1 | P fimbrial operon-encoded inhibitor of motility in uropathogenic Escherichia coli | 97.4 6 | 552 / 552 | contig00080 len=1511 cov=38.4 corr=0 origname=NODE_80_length_1511_cov_38.439306 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 383..9 34 |
| pduC | CP03011 1 | PduC (propanediol dehydratase) was enriched in CD-derived AIEC. Inflamm Bowel Dis. 2014 Nov;20(11):1919-32. doi: 10.1097/MIB.00000000000000183. | 100 | 1665 / 1665 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 25887 3..260 537 |
| pemK-toxin | NC_0228 85 | Toxic component of a type II toxin-antitoxin (TA) system. Probably functions as an endoribonuclease. Responsible for the stable maintenance of the plasmid during cell division by postsegregational killing of plasmid-less daughter cells. | 100 | 333 / 333 | contig00028 len=30718 cov=16.5 corr=0 origname=NODE_28_length_30718_cov_16.495440 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 321..6 53 |
| ppk | CP02526 8 | Polyphosphate kinase | 98.8 4 | 2067 / 2067 | contig00005 len=241261 cov=30.8 corr=0 origname=NODE_5_length_241261_cov_30.751400 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 10950 9..111 575 |
| recG | CP01945 5 | RecG catalyzes reversal of stalled replication forks in response to replication stress in bacteria. | 96.6 2 | 2072 / 2082 | contig00020 len=75175 cov=42.4 corr=0 origname=NODE_20_length_75175_cov_42.393735 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 19514. .21585 |

| | | | | | | |
|-----------------------------|-----------------|--|-------|-------------|---|------------------------|
| rpiR | NC_011750 | DNA-binding transcriptional repressor RpiR, involved in rpiB and als operon repression, positive. Positive in EPEC absent in EHEC | 99.55 | 891 / 891 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 50255. .51145 |
| sapA | NC_011751 | Antimicrobial peptide ABC transporter substrate-binding protein [Escherichia coli UMN026] | 96.9 | 1644 / 1644 | contig00011 len=162202 cov=26.6 corr=0 origname=NODE_11_length_162202_cov_26.556236 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 48475. .50118 |
| sat | HG941718 | The secreted autotransporter toxin | 99.92 | 3889 / 3888 | contig00039 len=14956 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_39_length_14956_cov_37.731337 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 10734. .14622 |
| sbmC (DNA Gyrase inhibitor) | CP027060 | sbmC, a stationary-phase induced SOS Escherichia coli gene, whose product protects cells from the DNA replication inhibitor microcin B17 | 97.05 | 474 / 474 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 27260 0..273 073 |
| shiA | NC_011751 | shiA, suppress the host inflammatory response | 98.86 | 1311 / 1317 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 23270 9..234 019 |
| sinH (Intimin-like protein) | NZ_NMHI01000013 | Salmonella virulence factor SinH (also known as SivH) | 98.07 | 2178 / 2178 | contig00005 len=241261 cov=30.8 corr=0 origname=NODE_5_length_241261_cov_30.751400 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 87561. .89738 |
| sitA | FQ482074 | In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter | 97.16 | 915 / 915 | contig00019 len=87190 cov=27.8 corr=0 origname=NODE_19_length_87190_cov_27.810459 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 4202.. 5116 |
| sitB | NC_017659 | In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter | 98.67 | 825 / 825 | contig00019 len=87190 cov=27.8 corr=0 origname=NODE_19_length_87190_cov_27.810459 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 3375.. 4199 |

| | | | | | | |
|-------------------------|-----------------|---|-------|-------------|---|----------------|
| sitC | CP000836 | In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter | 98.95 | 858 / 858 | contig00019 len=87190 cov=27.8 corr=0 origname=NODE_19_length_87190_cov_27.810459 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 2521..3378 |
| sitD | UGFR01000001 | In E. coli SitABCD represents a manganese and iron transporter | 97.09 | 858 / 858 | contig00019 len=87190 cov=27.8 corr=0 origname=NODE_19_length_87190_cov_27.810459 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1667..2524 |
| Slp-lipoprotein | NZ_NLYY01000004 | The Escherichia coli O157:H7 carbon starvation-inducible lipoprotein Slp contributes to initial adherence in vitro via the human polymeric immunoglobulin receptor. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216791 | 99.12 | 567 / 567 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 20791..21357 |
| stcD (Fimbrial adhesin) | NC_018658 | Putative fimbrial-like adhesin protein gene | 97.68 | 1035 / 1035 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 375832..376866 |
| stfD | LOFW01000008 | fimbrial protein, Associated with systemic and fatal infection in inbred mice | 98.01 | 753 / 753 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 630593..631345 |
| sugE | CP018976 | Quaternary ammonium compound-resistance SugE | 98.43 | 318 / 318 | contig00012 len=140204 cov=37.7 corr=0 origname=NODE_12_length_140204_cov_37.738879 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 125843..126160 |
| tagH | NC_017626 | Type VI secretion system protein ImpI | 98.85 | 1389 / 1389 | contig00027 len=31542 cov=35.8 corr=0 origname=NODE_27_length_31542_cov_35.810377 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 22933..24321 |
| tehA | CP027060 | Tellurite resistance protein TehA | 99.19 | 993 / 993 | contig00011 len=162202 cov=26.6 corr=0 origname=NODE_11_length_162202_cov_26.556236 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 138849..139841 |

| | | | | | | |
|-------------------------|-------------|---|-------|-------------|---|----------------|
| tehB | CP027060 | Tellurite resistance protein TehB | 98.32 | 594 / 594 | contig00011 len=162202 cov=26.6 corr=0 origname=NODE_11_length_162202_cov_26.556236 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 139838..140431 |
| tnpA iSEcp1-transposase | NC_014384 | Typically associated with CMY-type beta-lactamases | 100 | 1266 / 1266 | contig00064 len=3522 cov=87.4 corr=0 origname=NODE_64_length_3522_cov_87.354639 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 2074..3339 |
| tonB | NZ_CP023820 | TonB is a component of the energy transducing Ton system | 97.36 | 720 / 720 | contig00032 len=20230 cov=27.3 corr=0 origname=NODE_32_length_20230_cov_27.317714 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 15054..15770 |
| tssA | NC_011751 | Type VI secretion system protein TssA | 98.28 | 1509 / 1509 | contig00027 len=31542 cov=35.8 corr=0 origname=NODE_27_length_31542_cov_35.810377 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 15335..16843 |
| usp | CU651637 | Uropathogenic specific protein | 99.55 | 1782 / 1782 | contig00003 len=352298 cov=36.0 corr=0 origname=NODE_3_length_352298_cov_36.005591 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 247201..248982 |
| vagD | DQ381420 | Toxin-antitoxin (TA) system. VagCD, was found to be encoded on a virulence plasmid of Salmonella enterica serovar Dublin in 1992 | 100 | 756 / 756 | contig00028 len=30718 cov=16.5 corr=0 origname=NODE_28_length_30718_cov_16.495440 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 27032..27787 |
| VapA | CP030111 | A Rhodococcus equi virulence gene. VapA is associated with all R. equi strains isolated from infected foals; moreover, deletion mutagenesis experiments have shown that the presence of the vapA gene is essential for intracellular growth of the bacterium in macrophages | 100 | 453 / 453 | contig00011 len=162202 cov=26.6 corr=0 origname=NODE_11_length_162202_cov_26.556236 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 1130..1582 |

| | | | | | | |
|--|---------------|---|-----------|-------------------|---|------------------------|
| vat | KR09492 6 | The vacuolating autotransporter toxin | 99.7 2 | 5632 / 5631 | contig00014 len=119361 cov=35.6 corr=0 origname=NODE_14_length_119361_cov_35.571481 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 67590. .73221 |
| ybbP (putative ABC-transporter permease) | NC_0117 51 | YbbP is the predicted membrane-spanning subunit of a putative ATP-binding cassette (ABC) exporter complex | 96.7 3 | 2416 / 2415 | contig00008 len=210541 cov=33.5 corr=0 origname=NODE_8_length_210541_cov_33.456277 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 29879. .32293 |
| ybtA | CP02871 4 | Yersiniabactin transcriptional regulator | 99.5 8 | 960 / 960 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 20525 2..206 211 |
| ybtQ | CP00303 4 | Yersiniabactin-iron ABC transporter permease ATP-binding protein YbtQ | 99.8 3 | 1803 / 1803 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 20149 4..203 296 |
| ybtS | NC_0079 46 | Yersiniabactin biosynthesis salicylate synthase | 99.6 9 | 1305 / 1305 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 19888 9..200 193 |
| ybtX | CP00303 4 | Yersiniabactin-iron transporter permease YbtX | 99.6 9 | 1281 / 1281 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 20022 1..201 501 |
| ydeR | CU92816 3 | Two genes of the F9 operon, ydeQ and ydeR, were increased 2.2-fold with bile treatment. doi: 10.1371/journal.pone.0074647 | 98.2 1 | 504 / 504 | contig00025 len=37497 cov=27.6 corr=0 origname=NODE_25_length_37497_cov_27.565347 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 26780. .27283 |
| yecI (ferritin-like protein 2) | AE01407 5 | Gene encoding a ferritin-like protein (FtnB). Ferritin Mutants of Escherichia coli Are Iron Deficient and Growth Impaired | 99.8 | 504 / 504 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 10820 9..108 712 |

| | | | | | | |
|-------------------------|------------------|--|-----------|--------------|---|------------------------|
| YfcQ | CYEA01 000003 | Fimbrial-like protein | 97.9 2 | 480 / 480 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 62959 7..630 076 |
| yfcV | NC_0117 50 | Any two of the genes chuA (heme receptor), yfcV (YfC fimbria) or vat (vacuolating autotransporter protein), when detected along with the gene fyuA (yersiniabactin siderophore receptor), can be used to differentiate UPEC strains from commensal and DEC strains | 97.1 8 | 567 / 567 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 63409 4..634 660 |
| yfdV (transporter gene) | NC_0117 50 | Predicted transporter. The EvgA acid response regulator activates transcription of the Escherichia coli yfdXWUVE operon | 98.7 3 | 945 / 945 | contig00005 len=241261 cov=30.8 corr=0 origname=NODE_5_length_241261_cov_30.751400 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 21924 0..220 184 |
| ygfl | CU92816 3 | regulatory RNA gene | 96.8 8 | 897 / 897 | contig00004 len=323422 cov=35.3 corr=0 origname=NODE_4_length_323422_cov_35.309228 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 27506 4..275 954 |
| yjaA | CP02128 8 | YjaA is involved in the cellular response to hydrogen peroxide and acid stress | 100 | 384 / 384 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 16802 9..168 412 |
| yjcH | NC_0009 13 | APEC acs-yjcH-actP operon, encoding acetate assimilation system, presented the host-induced transcription during its | 96.5 1 | 315 / 315 | contig00010 len=168606 cov=38.5 corr=0 origname=NODE_10_length_168606_cov_38.491681 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 83750. .84064 |

| | | | | | | |
|--|-----------|---|-------|-------------|--|------------------------|
| | | proliferation in macrophages. | | | | |
| YqgB (putative virulence promoting factor) | CP023258 | Gene of unknown class or function significantly induced by AI-2 quorum signaling | 100 | 147 / 147 | contig00004 len=323422 cov=35.3 corr=0 origname=NODE_4_length_323422_cov_35.309228 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 29896 1..299 107 |
| zntA | AP010958 | Zinc/cadmium/lead-transporting P-type ATPase. | 95.04 | 2199 / 2199 | contig00009 len=196353 cov=39.2 corr=0 origname=NODE_9_length_196353_cov_39.173163 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 52011. .54209 |
| ZnuA | BA000007 | Protein associated with the high-affinity ATP-binding cassette ZnuABC transporter | 98.5 | 933 / 933 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 65941. .66873 |
| znuB | NC_000913 | Protein associated with the high-affinity ATP-binding cassette ZnuABC transporter | 97.58 | 786 / 786 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 67704. .68489 |
| ZnuC | BA000007 | Protein associated with the high-affinity ATP-binding cassette ZnuABC transporter | 98.02 | 756 / 756 | contig00001 len=661605 cov=28.9 corr=0 origname=NODE_1_length_661605_cov_28.917065 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 66952. .67707 |
| zupT | CP027060 | Zinc transporter | 99.87 | 774 / 774 | contig00007 len=216683 cov=37.5 corr=0 origname=NODE_7_length_216683_cov_37.478684 sw=shovill-spades/1.0.4 date=20200325 | 11338 4..114 157 |

Tabell 2: Virulensgener funnet i prøve 3 og 4 etter at resultatene fra helgenomsekvenseringen ble scannet med databasen VFDB.

| GENE | COVER AGE | %COV ERAG E | %IDE NTIT Y | ACCE SSION | PRODUCT |
|----------------|------------------------|-------------------|-------------------|---------------|---|
| Prøve 3 | | | | | |
| vgrG1b | 13- 1710/222 6 | 76.24 | 88.88 | NP_24 8785 | (vgrG1b) type VI secretion system substrate VgrG1b [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tse2 | 1-477/477 | 100.00 | 99.16 | NP_25 1392 | (tse2) type VI secretion system effector Tse2 [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilJ | 1463- 1640/204 9 | 8.69 | 75.84 | NP_24 9102 | (pilJ) twitching motility protein PilJ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilJ | 1532- 1690/204 9 | 7.76 | 76.10 | NP_24 9102 | (pilJ) twitching motility protein PilJ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpZ | 1-525/525 | 100.00 | 99.43 | NP_25 1785 | (xcpZ) general secretion pathway protein M [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpY | 1- 1149/114 9 | 100.00 | 98.78 | NP_25 1786 | (xcpY) general secretion pathway protein L [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpX | 1- 1002/100 2 | 100.00 | 99.40 | NP_25 1787 | (xcpX) general secretion pathway protein K [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpW | 1-714/714 | 100.00 | 99.58 | NP_25 1788 | (xcpW) general secretion pathway protein J [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpV | 1-390/390 | 100.00 | 99.23 | NP_25 1789 | (xcpV) general secretion pathway protein I [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpU | 1-519/519 | 100.00 | 98.27 | NP_25 1790 | (xcpU) general secretion pathway protein H [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|-------------|--------|-------|---------------|--|
| xcpT | 1-447/447 | 100.00 | 99.33 | NP_25 1791 | (xcpT) general secretion pathway protein G [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpS | 1-1218/1218 | 100.00 | 99.18 | NP_25 1792 | (xcpS) general secretion pathway protein F [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpR | 1-1509/1509 | 100.00 | 99.20 | NP_25 1793 | (xcpR) general secretion pathway protein E [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpP | 1-708/708 | 100.00 | 99.58 | NP_25 1794 | (xcpP) secretion protein XcpP [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpQ | 1-1977/1977 | 99.85 | 92.51 | NP_25 1795 | (xcpQ) general secretion pathway protein D [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fimV | 1-2760/2760 | 100.00 | 98.49 | NP_25 1805 | (fimV) putative Type IV pili related protein [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilF | 1-759/759 | 100.00 | 99.08 | NP_25 2494 | (pilF) type 4 fimbrial biogenesis protein PilF [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| lasB | 1-1497/1497 | 100.00 | 98.46 | NP_25 2413 | (lasB) elastase LasB [LasB (VF0087)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| mucP | 1-1353/1353 | 100.00 | 99.11 | NP_25 2339 | (mucP) metalloprotease protease [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algA | 1-1446/1446 | 100.00 | 99.58 | NP_25 2241 | (algA) phosphomannose isomerase / guanosine 5'-diphospho-D-mannose pyrophosphorylase [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algF | 1-651/651 | 100.00 | 99.23 | NP_25 2240 | (algF) alginate o-acetyltransferase AlgF [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algJ | 1-1176/1176 | 100.00 | 99.32 | NP_25 2239 | (algJ) alginate o-acetyltransferase AlgJ [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|--------------|---------------------|--------|-------|---------------|---|
| algI | 1- 1563/156 3 | 100.00 | 99.55 | NP_25 2238 | (algI) alginate o-acetyltransferase AlgI [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algL | 1- 1104/110 4 | 100.00 | 99.73 | NP_25 2237 | (algL) poly(beta-d-mannuronate) lyase precursor AlgL [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algX | 1- 1425/142 5 | 100.00 | 99.30 | NP_25 2236 | (algX) alginate biosynthesis protein AlgX [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algG | 1- 1632/163 2 | 100.00 | 99.82 | NP_25 2235 | (algG) outer membrane protein AlgE [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algE | 1- 1473/147 3 | 100.00 | 99.66 | NP_25 2234 | (algE) alginate biosynthetic protein AlgK precursor [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algK | 1- 1428/142 8 | 100.00 | 99.30 | NP_25 2233 | (algK) alginate biosynthesis protein Alg44 [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| alg44 | 1- 1170/117 0 | 100.00 | 99.57 | NP_25 2232 | (alg44) alginate biosynthesis protein Alg8 [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| alg8 | 1- 1485/148 5 | 100.00 | 99.73 | NP_25 2231 | (alg8) alginate-c5-mannuronan-epimerase AlgG [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algD | 1- 1311/131 1 | 100.00 | 99.16 | NP_25 2230 | (algD) GDP-mannose 6-dehydrogenase AlgD [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| motY | 1-966/966 | 100.00 | 99.48 | NP_25 2216 | (motY) probable outer membrane protein precursor [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tse3 | 1- 1227/122 7 | 100.00 | 99.27 | NP_25 2174 | (tse3) type VI secretion system effector Tse3 glycoside hydrolase [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|----------------|--------|-------|---------------|---|
| rhIA | 1-888/888 | 100.00 | 99.55 | NP_25 2169 | (rhIA) rhamnosyltransferase chain A [Rhamnolipid (VF0089)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| rhIB | 1-1281/1281 | 100.00 | 99.77 | NP_25 2168 | (rhIB) rhamnosyltransferase chain B [Rhamnolipid (VF0089)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| rhII | 1-606/606 | 100.00 | 98.68 | NP_25 2166 | (rhII) autoinducer synthesis protein RhII [Quorum sensing (VF0093)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgN | 1-471/471 | 100.00 | 98.30 | NP_25 2042 | (flgN) flagella synthesis protein FlgN [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgM | 1-324/324 | 100.00 | 98.15 | NP_25 2041 | (flgM) negative regulator of flagellin synthesis [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgA | 1-699/699 | 100.00 | 99.43 | NP_25 2040 | (flgA) flagellar basal body P-ring biosynthesis protein FlgA [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tsr | 1117-1263/2022 | 7.27 | 77.55 | YP_10 9900 | (tsr) methyl-accepting chemotaxis protein I [Flagella (VF0430)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| motB | 1-1044/1044 | 98.56 | 97.80 | NP_25 3640 | (motB) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| motA | 1-852/852 | 100.00 | 98.24 | NP_25 3641 | (motA) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| waaA | 1-1278/1278 | 100.00 | 99.53 | NP_25 3675 | (waaA) lipopolysaccharide core biosynthesis protein WaaP [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| waaP | 1-807/807 | 100.00 | 99.26 | NP_25 3696 | (waaP) UDP-glucose:(heptosyl) LPS alpha 13-glucosyltransferase WaaG [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| waaG | 1-1122/1122 | 100.00 | 99.55 | NP_25 3697 | (waaG) B-band O-antigen polymerase [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| waaC | 1-1068/1068 | 100.00 | 99.53 | NP_25 3698 | (waaC) 3-deoxy-D-manno-octulosonic-acid (KDO) transferase [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------------|--------------|--------|-------|-----------|---|
| waaF | 1-1038/1038 | 100.00 | 99.61 | NP_253699 | (waaF) heptosyltransferase I [LPS (VF0085)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilQ | 1-2145/2145 | 100.00 | 97.25 | NP_253727 | (pilQ) type 4 fimbrial biogenesis protein PilQ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilP | 1-525/525 | 100.00 | 99.62 | NP_253728 | (pilP) type IV pilus biogenesis protein PilP [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilO | 1-624/624 | 100.00 | 99.52 | NP_253729 | (pilO) type IV pilus inner membrane platform protein PilO [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilN | 1-597/597 | 100.00 | 99.67 | NP_253730 | (pilN) type IV pilus inner membrane platform protein PilN [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilM | 1-1065/1065 | 100.00 | 99.81 | NP_253731 | (pilM) type IV pilus inner membrane platform protein PilM [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algP/algR3 | 535-908/1059 | 35.03 | 76.00 | NP_253940 | (algP/algR3) alginate regulatory protein AlgP [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzB1 | 55-489/489 | 88.96 | 89.89 | NP_252900 | (phzB1) phenazine biosynthesis protein PhzB [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzA1 | 47-489/489 | 90.59 | 95.71 | NP_252899 | (phzA1) phenazine biosynthesis protein PhzA [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| lasA | 1-1257/1257 | 100.00 | 97.77 | NP_250562 | (lasA) LasA protease precursor [LasA (VF0088)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tse1 | 1-465/465 | 100.00 | 99.57 | NP_250535 | (tse1) type VI secretion system effector Tse1 peptidoglycanhydrolase [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscL | 1-645/645 | 100.00 | 98.76 | NP_250416 | (pscL) type III secretion systemt protein PscL [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscK | 1-627/627 | 99.04 | 97.93 | NP_250415 | (pscK) type III secretion system protein PscK [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscJ | 1-747/747 | 100.00 | 99.60 | NP_250414 | (pscJ) type III secretion system inner MS ring protein [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|---------------------|--------|--------|---------------|---|
| pscI | 1-339/339 | 100.00 | 99.41 | NP_25 0413 | (pscI) type III secretion system inner rod protein PscI [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscH | 1-432/432 | 100.00 | 100.00 | NP_25 0412 | (pscH) type III secretion system protein PscH [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscG | 1-348/348 | 100.00 | 99.14 | NP_25 0411 | (pscG) type III secretion system chaperone PscG for PscF [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscF | 1-258/258 | 100.00 | 100.00 | NP_25 0410 | (pscF) type III secretion system needle filament protein PscF [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscE | 1-204/204 | 100.00 | 98.04 | NP_25 0409 | (pscE) type III secretion system cochaperone PscE for PscG [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscD | 1- 1299/129 9 | 100.00 | 99.23 | NP_25 0408 | (pscD) type III secretion system basal body protein PscD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscC | 1- 1803/180 3 | 100.00 | 99.28 | NP_25 0407 | (pscC) type III secretion system secretin PscC [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscB | 1-423/423 | 100.00 | 99.53 | NP_25 0406 | (pscB) type III secretion system protein PscB [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exsD | 1-831/831 | 100.00 | 99.16 | NP_25 0405 | (exsD) type III secretion system regulatory protein ExsD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exsA | 1-837/837 | 100.00 | 99.76 | NP_25 0404 | (exsA) type III secretion system regulatory protein ExsA [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exsB | 1-414/414 | 100.00 | 98.07 | NP_25 0403 | (exsB) type III secretion system piolitin ExsB [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exsE | 1-246/246 | 100.00 | 97.15 | NP_25 0402 | (exsE) type III secretion system regulatory protein ExsE [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exsC | 1-438/438 | 100.00 | 98.40 | NP_25 0401 | (exsC) type III secretion system regulatory protein ExsC [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| popD | 1-888/888 | 100.00 | 97.19 | NP_25 0400 | (popD) type III secretion system hydrophobic translocator pore protein PopD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|-------------|--------|--------|-----------|---|
| popB | 1-1173/1173 | 100.00 | 99.49 | NP_250399 | (popB) type III secretion system hydrophobic translocator pore protein PopB [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcrH | 1-504/504 | 100.00 | 99.01 | NP_250398 | (pcrH) type III secretion system regulatory protein PcrH [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcrV | 1-885/885 | 100.00 | 98.76 | NP_250397 | (pcrV) type III secretion system hydrophilic translocator needle tip protein PcrV [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcrG | 1-297/297 | 100.00 | 99.66 | NP_250396 | (pcrG) type III secretion system cytoplasmic regulator PcrG [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcrR | 1-435/435 | 100.00 | 99.54 | NP_250395 | (pcrR) type III secretion system regulatory protein PcrR [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcrD | 1-2121/2121 | 100.00 | 99.20 | NP_250394 | (pcrD) type III secretion system protein PcrD [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcr4 | 1-330/330 | 100.00 | 99.39 | NP_250393 | (pcr4) type III secretion system protein Pcr4 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcr3 | 1-366/366 | 100.00 | 99.18 | NP_250392 | (pcr3) type III secretion system protein Pcr3 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcr2 | 1-372/372 | 100.00 | 99.46 | NP_250391 | (pcr2) type III secretion system protein Pcr2 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pcr1 | 1-279/279 | 100.00 | 100.00 | NP_250390 | (pcr1) type III secretion system protein Pcr1 [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| popN | 1-867/867 | 100.00 | 99.77 | NP_250389 | (popN) type III secretion system outer membrane protein PopN [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscN | 1-1323/1323 | 100.00 | 99.47 | NP_250388 | (pscN) type III secretion system ATPase PscN [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscO | 1-477/477 | 100.00 | 99.16 | NP_250387 | (pscO) type III secretion system protein PscO [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscP | 1-1110/1110 | 100.00 | 96.48 | NP_250386 | (pscP) type III secretion system protein PscP [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------------------|------------------------|--------|--------|---------------|--|
| pscQ | 1-930/930 | 100.00 | 99.03 | NP_25 0385 | (pscQ) type III secretion system protein PscQ [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscR | 1-654/654 | 100.00 | 99.69 | NP_25 0384 | (pscR) type III secretion system protein PscR [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscS | 1-267/267 | 100.00 | 100.00 | NP_25 0383 | (pscS) type III secretion system protein PscS [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscT | 1-789/789 | 100.00 | 99.24 | NP_25 0382 | (pscT) type III secretion system protein PscT [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pscU | 1- 1050/105 0 | 100.00 | 98.76 | NP_25 0381 | (pscU) type III secretion system protein PscU [TTSS (VF0083)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| clpV1 | 1866- 2283/270 9 | 15.36 | 76.01 | NP_24 8780 | (clpV1) type VI secretion system AAA+ family ATPase [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tssH- 5/clpV | 580- 1269/303 9 | 22.64 | 76.16 | YP_11 1509 | (tssH-5/clpV) Clp-type ATPase chaperone protein [T6SS-1 (VF0429)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| tsr | 1117- 1219/202 2 | 5.09 | 84.47 | YP_10 9900 | (tsr) methyl-accepting chemotaxis protein I [Flagella (VF0430)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| tsr | 1117- 1220/202 2 | 5.14 | 84.61 | YP_10 9900 | (tsr) methyl-accepting chemotaxis protein I [Flagella (VF0430)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| pilJ | 1510- 1683/204 9 | 8.49 | 78.16 | NP_24 9102 | (pilJ) twitching motility protein PilJ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilT | 1- 1035/103 5 | 100.00 | 99.52 | NP_24 9086 | (pilT) twitching motility protein PilT [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilU | 1- 1149/114 9 | 100.00 | 99.83 | NP_24 9087 | (pilU) twitching motility protein PilU [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|-----------------------|--------|--------|---------------|--|
| pilG | 1-408/408 | 100.00 | 100.00 | NP_24 9099 | (pilG) twitching motility protein PilG [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilH | 1-366/366 | 100.00 | 100.00 | NP_24 9100 | (pilH) twitching motility protein PilH [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilI | 1-537/537 | 100.00 | 100.00 | NP_24 9101 | (pilI) twitching motility protein PilI [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilJ | 1- 2049/204 9 | 100.00 | 99.56 | NP_24 9102 | (pilJ) twitching motility protein PilJ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilK | 1-876/876 | 100.00 | 99.20 | NP_24 9103 | (pilK) methyltransferase PilK [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| chpA | 1- 7419/741 9 | 99.92 | 98.61 | NP_24 9104 | (chpA) still frameshift probable component of chemotactic signal transduction system [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| chpB | 1- 1032/103 2 | 100.00 | 99.03 | NP_24 9105 | (chpB) probable methylesterase [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| chpC | 1-507/507 | 100.00 | 99.01 | NP_24 9106 | (chpC) probable chemotaxis protein [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| chpD | 1-795/795 | 100.00 | 99.75 | NP_24 9107 | (chpD) probable transcriptional regulator [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| chpE | 1-612/612 | 100.00 | 98.37 | NP_24 9108 | (chpE) probable chemotaxis protein [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpR | 350- 1179/150 9 | 54.67 | 78.08 | NP_25 1793 | (xcpR) general secretion pathway protein E [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algU | 1-582/582 | 100.00 | 99.14 | NP_24 9453 | (algU) alginate biosynthesis protein AlgZ/FimS [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| mucA | 1-585/585 | 100.00 | 99.14 | NP_24 9454 | (mucA) alkaline metalloproteinase precursor [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| mucB | 1-951/951 | 100.00 | 98.95 | NP_24 9455 | (mucB) anti-sigma factor MucA inhibitor of alg gene expression [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|----------------|--------|-------|---------------|--|
| mucC | 1-456/456 | 100.00 | 99.78 | NP_24 9456 | (mucC) negative regulator for alginate biosynthesis MucB [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| mucD | 1-1425/1425 | 100.00 | 98.88 | NP_24 9457 | (mucD) serine protease MucD precursor [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| plcH | 1-2193/2193 | 100.00 | 99.59 | NP_24 9535 | (plcH) hemolytic phospholipase C precursor [PLC (VF0092)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| aprA | 1-1440/1440 | 100.00 | 99.58 | NP_24 9940 | (aprA) alkaline metalloproteinase precursor [Alkaline protease (VF0090)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tsr | 1117-1220/2022 | 5.14 | 83.65 | YP_10 9900 | (tsr) methyl-accepting chemotaxis protein I [Flagella (VF0430)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| pilJ | 1522-1684/2049 | 7.96 | 76.07 | NP_24 9102 | (pilJ) twitching motility protein PilJ [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| lasI | 1-606/606 | 100.00 | 99.83 | NP_25 0123 | (lasI) autoinducer synthesis protein LasI [Quorum sensing (VF0093)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliK | 1-1284/1284 | 100.00 | 96.81 | NP_25 0132 | (fliK) flagellar hook-length control protein FliK [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliL | 1-522/522 | 100.00 | 99.81 | NP_25 0133 | (fliL) flagellar basal body protein FliL [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliM | 1-972/972 | 100.00 | 99.90 | NP_25 0134 | (fliM) flagellar motor switch protein FliM [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliN | 1-474/474 | 100.00 | 99.58 | NP_25 0135 | (fliN) flagellar motor switch protein FliN [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliO | 1-453/453 | 100.00 | 98.90 | NP_25 0136 | (fliO) flagellar protein FliO [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliP | 1-768/768 | 100.00 | 99.61 | NP_25 0137 | (fliP) flagellar biosynthetic protein FliP [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-----------------------|---------------------|--------|--------|---------------|--|
| fliQ | 1-270/270 | 100.00 | 100.00 | NP_25 0138 | (fliQ) flagellar biosynthetic protein FliQ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliR | 1-772/777 | 99.36 | 98.83 | NP_25 0139 | (fliR) flagellar biosynthetic protein FliR [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flhB | 1- 1137/113 7 | 100.00 | 99.56 | NP_25 0140 | (flhB) flagellar biosynthetic protein FlhB [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flhA | 1- 2124/212 4 | 100.00 | 99.15 | NP_25 0143 | (flhA) flagellar biosynthesis protein FlhA [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flhF | 1- 1290/129 0 | 100.00 | 99.61 | NP_25 0144 | (flhF) flagellar biosynthesis protein FlhF [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fleN | 1-843/843 | 100.00 | 99.64 | NP_25 0145 | (fleN) flagellar synthesis regulator FleN [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliA | 1-744/744 | 100.00 | 99.60 | NP_25 0146 | (fliA) flagellar biosynthesis sigma factor FliA [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| motC | 1-741/741 | 100.00 | 98.92 | NP_25 0151 | (motC) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| motD | 1-891/891 | 100.00 | 98.65 | NP_25 0152 | (motD) flagellar motor protein [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpA/ pilD | 1-873/873 | 100.00 | 99.08 | NP_25 3218 | (xcpA/pilD) type 4 prepilin peptidase PilD [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilC | 4- 1119/112 5 | 98.67 | 79.59 | NP_25 3217 | (pilC) still frameshift type 4 fimbrial biogenesis protein PilC [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilB | 1- 1701/170 1 | 100.00 | 88.18 | NP_25 3216 | (pilB) type 4 fimbrial biogenesis protein PilB [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilA | 1-98/450 | 21.78 | 86.73 | NP_25 3215 | (pilA) type 4 fimbrial precursor PilA [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|--------------------|-------------|--------|-------|---------------|---|
| algW | 1-1170/1170 | 100.00 | 98.80 | NP_25 3136 | (algW) AlgW protein [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exoT | 1-1374/1374 | 100.00 | 99.64 | NP_24 8734 | (exoT) type III secretion system effector ExoT ADP ribosyltransferase activity and GTPase-activating protein activity [ExoT (VF0097)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzH | 1-1833/1833 | 100.00 | 99.13 | NP_24 8741 | (phzH) phenazine-modifying enzyme [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tagQ | 1-915/915 | 100.00 | 98.36 | NP_24 8760 | (tagQ) type VI secretion associated protein TagQ outer membrane lipoprotein [HSI-I (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tagR | 1-1713/1713 | 100.00 | 99.71 | NP_24 8761 | (tagR) type IV secretion associated protein TagR positively regulates PpkA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tagS | 1-1200/1200 | 100.00 | 99.17 | NP_24 8762 | (tagS) type IV secretion associated protein TagS forming a stable inner membrane complex with TagT [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tagT | 1-720/720 | 100.00 | 98.47 | NP_24 8763 | (tagT) type six secretion associated protein TagT ATP-binding component of ABC transporter [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| ppkA | 1-3099/3099 | 100.00 | 99.48 | NP_24 8764 | (ppkA) serine/threonine protein kinase PpkA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pppA | 1-729/729 | 100.00 | 99.45 | NP_24 8765 | (pppA) Pseudomonas protein phosphatase PppA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tagF/pppB | 1-681/681 | 100.00 | 98.83 | NP_24 8766 | (tagF/pppB) Pseudomonas protein phosphatase PppB [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| icmF1/tssM1 | 1-3306/3306 | 100.00 | 99.03 | NP_24 8767 | (icmF1/tssM1) type VI secretion system protein IcmF1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| dotU1 | 1-1350/1350 | 100.00 | 99.19 | NP_24 8768 | (dotU1) type VI secretion system protein DotU [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------------|-------------|--------|--------|---------------|--|
| hsiJ1 | 1-1335/1335 | 100.00 | 99.70 | NP_24 8769 | (hsiJ1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiJ1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| lip1 | 1-465/465 | 100.00 | 99.14 | NP_24 8770 | (lip1) lipoprotein [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fha1 | 1-1494/1494 | 100.00 | 98.41 | NP_24 8771 | (fha1) type VI secretion system forkhead-associated protein Fha1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiA1 | 1-1035/1035 | 100.00 | 99.03 | NP_24 8772 | (hsiA1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiA1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiB1/vipA | 1-519/519 | 100.00 | 100.00 | NP_24 8773 | (hsiB1/vipA) type VI secretion system tubule-forming protein VipA [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiC1/vipB | 1-1497/1497 | 100.00 | 99.60 | NP_24 8774 | (hsiC1/vipB) type VI secretion system tubule-forming protein VipB [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hcp1 | 1-489/489 | 100.00 | 99.80 | NP_24 8775 | (hcp1) type VI secretion system substrate Hcp1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiE1 | 1-846/846 | 100.00 | 99.05 | NP_24 8776 | (hsiE1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiE1 interacting with HsiB1 to form a novel subcomplex of the T6SS [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiF1 | 1-510/510 | 100.00 | 99.22 | NP_24 8777 | (hsiF1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiF1 a gp25-like protein but not exhibit lysozyme activity [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiG1 | 1-1860/1860 | 100.00 | 99.09 | NP_24 8778 | (hsiG1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiG1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| hsiH1 | 1-1047/1047 | 100.00 | 98.66 | NP_24 8779 | (hsiH1) type VI secretion system hcp secretion island protein HsiH1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| clpV1 | 1-2709/2709 | 100.00 | 99.34 | NP_24 8780 | (clpV1) type VI secretion system AAA+ family ATPase [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|---------------|-------------|--------|-------|-----------|---|
| vgrG1a | 1-1932/1932 | 100.00 | 99.17 | NP_248781 | (vgrG1a) type VI secretion system substrate VgrG1 [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| vgrG1b | 1-2226/2226 | 100.00 | 98.83 | NP_248785 | (vgrG1b) type VI secretion system substrate VgrG1b [HSI-1 (Hcp-secretion island 1) (SS178)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| toxA | 1-1917/1917 | 100.00 | 99.27 | NP_249839 | (toxA) exotoxin A precursor [ExoA (VF0086)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| rhIC | 1-978/978 | 100.00 | 98.57 | NP_249821 | (rhIC) rhamnosyltransferase 2 [Rhamnolipid biosynthesis (CVF524)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliJ | 1-444/444 | 100.00 | 99.78 | NP_249796 | (fliJ) flagellar protein FliJ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliI | 1-1356/1356 | 100.00 | 99.19 | NP_249795 | (fliI) flagellum-specific ATP synthase FliI [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliH | 1-807/807 | 100.00 | 99.26 | NP_249794 | (fliH) flagellar assembly protein H [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliG | 1-1017/1017 | 100.00 | 99.41 | NP_249793 | (fliG) flagellar motor switch protein G [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliF | 1-1797/1797 | 100.00 | 99.67 | NP_249792 | (fliF) flagellar M-ring protein FliF [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliE | 1-330/330 | 100.00 | 99.70 | NP_249791 | (fliE) flagellar hook-basal body complex protein FliE [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fleR | 1-1422/1422 | 100.00 | 99.65 | NP_249790 | (fleR) two-component response regulator [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fleS | 1-1209/1209 | 100.00 | 98.92 | NP_249789 | (fleS) two-component sensor [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|----------------|--------|--------|---------------|---|
| fleQ | 1-1473/1473 | 100.00 | 99.12 | NP_24 9788 | (fleQ) transcriptional regulator FleQ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliC | 1155-1467/1467 | 21.27 | 79.62 | NP_24 9783 | (fliC) B-type flagellin [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fliC | 1-470/1467 | 31.90 | 82.20 | NP_24 9783 | (fliC) B-type flagellin [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgK | 1-2052/2052 | 99.71 | 86.76 | NP_24 9777 | (flgK) flagellar hook-associated protein 1 FlgK [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgJ | 1-1203/1203 | 100.00 | 99.09 | NP_24 9776 | (flgJ) flagellar rod assembly protein/muramidase FlgJ [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgI | 1-1110/1110 | 100.00 | 99.55 | NP_24 9775 | (flgI) flagellar P-ring protein precursor FlgI [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgH | 1-696/696 | 100.00 | 99.42 | NP_24 9774 | (flgH) flagellar L-ring protein precursor FlgH [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgG | 1-786/786 | 100.00 | 99.62 | NP_24 9773 | (flgG) flagellar basal-body rod protein FlgG [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgF | 1-750/750 | 100.00 | 99.20 | NP_24 9772 | (flgF) flagellar basal-body rod protein FlgF [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgE | 1-1389/1389 | 100.00 | 99.28 | NP_24 9771 | (flgE) flagellar hook protein FlgE [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgD | 1-714/714 | 100.00 | 99.30 | NP_24 9770 | (flgD) flagellar basal-body rod modification protein FlgD [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgC | 1-441/441 | 100.00 | 100.00 | NP_24 9769 | (flgC) flagellar basal-body rod protein FlgC [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| flgB | 1-408/408 | 100.00 | 99.75 | NP_24 9768 | (flgB) flagellar basal body rod protein FlgB [Deoxyhexose linking sugar 209 Da capping structure (AI138)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------|------------------------|--------|-------|---------------|---|
| exoU | 1- 2064/206 4 | 100.00 | 99.90 | AAC16 023 | (exoU) type III secretion system effector ExoU phospholipase A2 activity [ExoU (VF0098)] [Pseudomonas aeruginosa PA103] |
| algB | 1- 1350/135 0 | 100.00 | 99.63 | NP_25 4170 | (algB) two-component response regulator AlgB [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdJ | 5990- 6474/647 4 | 7.49 | 99.17 | NP_25 1090 | (pvdJ) pyoverdine biosynthesis protein PvdJ [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdD | 1- 7347/734 7 | 100.00 | 99.25 | NP_25 1089 | (pvdD) pyoverdine synthetase D [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fpvA | 1- 2448/244 8 | 100.00 | 99.51 | NP_25 1088 | (fpvA) ferripyoverdine receptor FpvA [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdE | 1- 1650/165 0 | 100.00 | 99.64 | NP_25 1087 | (pvdE) pyoverdine biosynthesis protein PvdE [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdF | 1-828/828 | 100.00 | 99.76 | NP_25 1086 | (pvdF) pyoverdine synthetase F [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdO | 1-855/855 | 100.00 | 99.42 | NP_25 1085 | (pvdO) pyoverdine biosynthesis protein PvdO [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdN | 1- 1284/128 4 | 100.00 | 99.30 | NP_25 1084 | (pvdN) pyoverdine biosynthesis protein PvdN [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdM | 1- 1347/134 7 | 100.00 | 99.11 | NP_25 1083 | (pvdM) dipeptidase precursor [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdP | 1- 1635/163 5 | 100.00 | 99.14 | NP_25 1082 | (pvdP) tyrosinase required for pyoverdine maturation [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|------------------------|------------------------|--------|-------|---------------|--|
| pvdA | 1- 1332/133 2 | 100.00 | 99.40 | NP_25 1076 | (pvdA) L-ornithine N5-oxygenase PvdA [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdQ | 1- 2289/228 9 | 100.00 | 99.52 | NP_25 1075 | (pvdQ) 3-oxo-C12-homoserine lactone acylase PvdQ [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| clpV1 | 591- 1320/270 9 | 26.76 | 80.00 | NP_24 8780 | (clpV1) type VI secretion system AAA+ family ATPase [HSI-I (VF0334)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algC | 1- 1392/139 2 | 100.00 | 99.21 | NP_25 4009 | (algC) phosphomannomutase AlgC [Alginate biosynthesis (CVF522)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| xcpR | 767- 1205/150 9 | 28.23 | 75.22 | NP_25 1793 | (xcpR) general secretion pathway protein E [xcp secretion system (VF0084)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algP/a lgR3 | 1- 1059/105 9 | 97.73 | 91.89 | NP_25 3940 | (algP/algR3) alginate regulatory protein AlgP [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algQ | 1-483/483 | 100.00 | 99.17 | NP_25 3942 | (algQ) Alginate regulatory protein AlgQ [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algR | 1-747/747 | 100.00 | 99.47 | NP_25 3948 | (algR) alginate biosynthesis regulatory protein AlgR [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| algZ | 1- 1077/107 7 | 100.00 | 99.63 | NP_25 3949 | (algZ) sigma factor AlgU [Alginate (VF0091)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| exoY | 1- 1137/113 7 | 100.00 | 99.38 | NP_25 0881 | (exoY) type III secretion system effector ExoY adenylate cyclase [ExoY (VF0099)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchF | 2653- 2789/543 0 | 2.52 | 81.16 | NP_25 2915 | (pchF) pyochelin synthetase PchF [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|-------------------------|------------------------|--------|-------|---------------|--|
| mucE | 1-270/270 | 100.00 | 98.52 | NP_25 2722 | (mucE) small envelope protein MucE [Alginate regulation (CVF523)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilE | 1-426/426 | 100.00 | 99.06 | NP_25 3246 | (pilE) type 4 fimbrial biogenesis protein PilE [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilY2 | 1-348/348 | 100.00 | 98.56 | NP_25 3245 | (pilY2) type 4 fimbrial biogenesis protein PilY2 [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilY1 | 1- 3486/348 6 | 99.43 | 94.07 | NP_25 3244 | (pilY1) type 4 fimbrial biogenesis protein PilY1 [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilX | 1-588/588 | 100.00 | 99.32 | NP_25 3243 | (pilX) type 4 fimbrial biogenesis protein PilX [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilW | 1-825/825 | 100.00 | 98.67 | NP_25 3242 | (pilW) type IV fimbrial biogenesis protein PilW [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilV | 1-558/558 | 100.00 | 98.92 | NP_25 3241 | (pilV) type IV pilus biogenesis protein PilV [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fimU | 1-507/507 | 100.00 | 99.41 | NP_25 3240 | (fimU) type 4 fimbrial biogenesis protein FimU [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fimT | 1-510/510 | 100.00 | 98.82 | NP_25 3239 | (fimT) type 4 fimbrial biogenesis protein FimT [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilR | 1- 1338/133 8 | 100.00 | 99.18 | NP_25 3237 | (pilR) two-component response regulator PilR [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pilS | 1- 1593/159 3 | 100.00 | 99.56 | NP_25 3236 | (pilS) two-component sensor PilS [Type IV pili (VF0082)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tssH- 5/clpV | 2199- 2351/303 9 | 5.03 | 77.78 | YP_11 1509 | (tssH-5/clpV) Clp-type ATPase chaperone protein [T6SS-1 (VF0429)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| pvcA | 1-987/987 | 100.00 | 99.09 | NP_25 0944 | (pvcA) paerucumarin biosynthesis protein PvcA [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvcB | 1-876/876 | 100.00 | 99.09 | NP_25 0945 | (pvcB) paerucumarin biosynthesis protein PvcB [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|--------------|-------------|--------|--------|-----------|--|
| pvcC | 1-1503/1503 | 100.00 | 99.07 | NP_250946 | (pvcC) paerucumarin biosynthesis protein PvcC [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvcD | 1-647/648 | 99.85 | 97.84 | NP_250947 | (pvcD) paerucumarin biosynthesis protein PvcD [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| ptxR | 1-939/939 | 100.00 | 98.83 | NP_250948 | (ptxR) transcriptional regulator PtxR [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzG1 | 543-645/645 | 15.97 | 100.00 | NP_252906 | (phzG1) phenazine biosynthesis protein PhzG pyridoxamine 5'-phosphate oxidase [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzB1 | 1-489/489 | 100.00 | 99.18 | NP_252900 | (phzB1) phenazine biosynthesis protein PhzB [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzA1 | 1-489/489 | 100.00 | 99.18 | NP_252899 | (phzA1) phenazine biosynthesis protein PhzA [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzM | 1-1005/1005 | 100.00 | 99.40 | NP_252898 | (phzM) phenazine-specific methyltransferase PhzM (adenosylmethionine dependent methyltransferase) [Pyocyanin (VF0100)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchA | 1-1431/1431 | 100.00 | 98.95 | NP_252921 | (pchA) salicylate biosynthesis isochorismate synthase PchA [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchB | 1-306/306 | 100.00 | 99.67 | NP_252920 | (pchB) salicylate biosynthesis protein PchB [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchC | 1-756/756 | 100.00 | 98.94 | NP_252919 | (pchC) pyochelin biosynthetic protein PchC [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchD | 1-1644/1644 | 100.00 | 98.97 | NP_252918 | (pchD) pyochelin biosynthesis protein PchD [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchR | 1-891/891 | 100.00 | 99.10 | NP_252917 | (pchR) transcriptional regulator PchR [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchE | 1-4317/4317 | 100.00 | 98.91 | NP_252916 | (pchE) dihydroaeruginosic acid synthetase PchE [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|------------------|---------------|--------|--------|-----------|--|
| pchF | 1-5430/5430 | 100.00 | 98.51 | NP_252915 | (pchF) pyochelin synthetase PchF [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchG | 1-1050/1050 | 100.00 | 98.86 | NP_252914 | (pchG) pyochelin biosynthetic protein PchG [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchH | 1-1713/1713 | 100.00 | 98.72 | NP_252913 | (pchH) ABC transporter ATP-binding protein [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pchI | 1-1725/1725 | 100.00 | 98.90 | NP_252912 | (pchI) ABC transporter ATP-binding protein [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| fptA | 1-2163/2163 | 100.00 | 99.31 | NP_252911 | (fptA) Fe(III)-pyochelin receptor precursor [Pyochelin (VF0095)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzS | 1-1209/1209 | 100.00 | 98.35 | NP_252907 | (phzS) flavin dependent hydroxylase PhzS [Pyocyanin (VF0100)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzG1 | 543-645/645 | 15.97 | 100.00 | NP_252906 | (phzG1) phenazine biosynthesis protein PhzG pyridoxamine 5'-phosphate oxidase [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdS | 1-564/564 | 100.00 | 99.47 | NP_251116 | (pvdS) extracytoplasmic-function sigma-70 factor [Pyoverdine (VF0094)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdG | 1-765/765 | 100.00 | 99.08 | NP_251115 | (pvdG) pyoverdine biosynthesis protein PvdG [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdL | 1-13029/13029 | 100.00 | 98.96 | NP_251114 | (pvdL) peptide synthase PvdL [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdH | 1-1410/1410 | 100.00 | 99.57 | NP_251103 | (pvdH) diaminobutyrate-2-oxoglutarate aminotransferase PvdH [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| mbtH-like | 1-219/219 | 100.00 | 100.00 | NP_251102 | (mbtH-like) MbtH-like protein from the pyoverdine cluster [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|--------------|---------------------------|--------|-------|---------------|--|
| pvdI | 1- 2625/154 50 | 16.97 | 97.79 | NP_25 1092 | (pvdI) peptide synthase [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| tsr | 1098- 1209/202 2 | 5.54 | 82.14 | YP_10 9900 | (tsr) methyl-accepting chemotaxis protein I [Flagella (VF0430)] [Burkholderia pseudomallei K96243] |
| pvdI | 2756- 10206/15 450 | 48.21 | 98.59 | NP_25 1092 | (pvdI) peptide synthase [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdI | 14996- 15450/15 450 | 2.94 | 99.78 | NP_25 1092 | (pvdI) peptide synthase [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdJ | 1- 5254/647 4 | 81.16 | 99.50 | NP_25 1090 | (pvdJ) pyoverdine biosynthesis protein PvdJ [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdI | 10337- 14260/15 450 | 25.40 | 99.23 | NP_25 1092 | (pvdI) peptide synthase [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzE1 | 1- 998/1884 | 52.97 | 99.20 | NP_25 2903 | (phzE1) phenazine biosynthesis protein PhzE [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzD1 | 1-624/624 | 100.00 | 99.04 | NP_25 2902 | (phzD1) phenazine biosynthesis protein PhzD isochorismatase [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzC1 | 1- 1218/121 8 | 100.00 | 99.42 | NP_25 2901 | (phzC1) phenazine biosynthesis protein PhzC [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzB1 | 385- 489/489 | 21.47 | 99.05 | NP_25 2900 | (phzB1) phenazine biosynthesis protein PhzB [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzG1 | 1-645/645 | 100.00 | 99.38 | NP_25 2906 | (phzG1) phenazine biosynthesis protein PhzG pyridoxamine 5'-phosphate oxidase [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzF1 | 1-837/837 | 100.00 | 99.16 | NP_25 2904 | (phzF1) phenazine biosynthesis protein PhzF isomerase [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |

| | | | | | |
|----------------|-------------------|-------|-------|----------------------|---|
| phzE1 | 1324-1884/1884 | 29.78 | 99.11 | NP_25 2903 | (phzE1) phenazine biosynthesis protein PhzE [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdI | 14134-15122/15450 | 6.40 | 99.39 | NP_25 1092 | (pvdI) peptide synthase [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzE1 | 872-1450/1884 | 30.73 | 99.31 | NP_25 2903 | (phzE1) phenazine biosynthesis protein PhzE [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| phzE1 | 872-1450/1884 | 30.73 | 99.48 | NP_25 2903 | (phzE1) phenazine biosynthesis protein PhzE [Phenazines biosynthesis (CVF536)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| pvdI | 2499-2882/15450 | 2.49 | 98.96 | NP_25 1092 | (pvdI) peptide synthase [pyoverdine (IA001)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| Prove 4 | | | | | |
| entD | 15-126/771 | 14.40 | 92.92 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| cheY | 1-388/390 | 99.49 | 77.06 | YP_00 100677 4 | (cheY) chemotaxis regulatory protein CheY [peritrichous flagella (AI145)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| cheD | 847-1518/1674 | 40.14 | 75.00 | YP_00 100677 8 | (cheD) methyl-accepting chemotaxis protein CheD [peritrichous flagella (AI145)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| cheW | 19-468/498 | 90.36 | 75.11 | YP_00 100677 9 | (cheW) purine-binding chemotaxis protein CheW [peritrichous flagella (AI145)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| cheA | 1-389/2055 | 18.93 | 75.06 | YP_00 100678 0 | (cheA) chemotaxis protein CheA [peritrichous flagella (AI145)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |

| | | | | | |
|-------------|----------------------|--------|-------|----------------------|---|
| entD | 15- 124/771 | 14.01 | 87.50 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| fliC | 7- 320/1146 | 27.40 | 79.30 | YP_00 100672 8 | (fliC) flagellin [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| fliG | 6-993/993 | 99.50 | 78.85 | YP_00 100674 2 | (fliG) flagellar motor switch protein G [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| fliI | 43- 1281/133 2 | 92.64 | 75.30 | YP_00 100674 4 | (fliI) flagellum-specific ATP synthase FliI [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| fliM | 1- 1005/100 5 | 99.50 | 76.63 | YP_00 100674 8 | (fliM) flagellar motor switch protein FliM [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| fliN | 157- 416/417 | 62.35 | 78.46 | YP_00 100674 9 | (fliN) flagellar motor switch protein FliN [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| fliP | 10- 686/687 | 98.40 | 77.14 | YP_00 100675 1 | (fliP) flagellar biosynthetic protein FliP [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| ybtS | 1- 1305/130 5 | 100.00 | 99.77 | NP_40 5477 | (ybtS) salicylate synthase Irp9 [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| ybtX | 1- 1281/128 1 | 100.00 | 99.61 | NP_40 5476 | (ybtX) putative signal transducer [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| ybtQ | 1- 1803/180 3 | 100.00 | 99.78 | NP_40 5475 | (ybtQ) inner membrane ABC-transporter YbtQ [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| ybtP | 1- 1803/180 3 | 100.00 | 99.61 | NP_40 5474 | (ybtP) lipoprotein inner membrane ABC-transporter [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |

| | | | | | |
|-------------|-------------|--------|-------|---------------|---|
| ybtA | 1-960/960 | 100.00 | 99.48 | NP_40 5473 | (ybtA) transcriptional regulator YbtA [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| irp2 | 1-6106/6108 | 99.95 | 98.87 | NP_40 5472 | (irp2) yersiniabactin biosynthetic protein Irp2 [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| irp1 | 1-9492/9492 | 100.00 | 99.33 | NP_40 5471 | (irp1) yersiniabactin biosynthetic protein Irp1 [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| ybtU | 1-1101/1101 | 100.00 | 99.73 | NP_40 5470 | (ybtU) yersiniabactin biosynthetic protein YbtU [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| ybtT | 1-804/804 | 100.00 | 99.50 | NP_40 5469 | (ybtT) yersiniabactin biosynthetic protein YbtT [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| ybtE | 1-1578/1578 | 100.00 | 99.81 | NP_40 5468 | (ybtE) yersiniabactin siderophore biosynthetic protein [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| fyuA | 1-2022/2022 | 100.00 | 99.95 | NP_40 5467 | (fyuA) pesticin/yersiniabactin receptor protein [Yersiniabactin (VF0136)] [Yersinia pestis CO92] |
| entD | 3-133/771 | 16.86 | 84.85 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-662/771 | 85.86 | 92.75 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| fepA | 1-2241/2241 | 100.00 | 98.88 | NP_75 2600 | (fepA) ferrienterobactin outer membrane transporter [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| fes | 1-1203/1203 | 100.00 | 99.83 | NP_75 2602 | (fes) enterobactin/ferric enterobactin esterase [enterobactin (IA019)] [Escherichia coli CFT073] |
| entF | 1-3854/3882 | 99.28 | 98.36 | NP_75 2604 | (entF) enterobactin synthase multienzyme complex component ATP-dependent [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |

| | | | | | |
|-------------|-------------|--------|-------|---------------|---|
| fepC | 1-816/816 | 100.00 | 99.39 | NP_75 2606 | (fepC) ferrienterobactin ABC transporter ATPase [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| fepG | 1-993/993 | 100.00 | 99.80 | NP_75 2607 | (fepG) iron-enterobactin ABC transporter permease [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| fepD | 1-1017/1017 | 100.00 | 99.51 | NP_75 2608 | (fepD) ferrienterobactin ABC transporter permease [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entS | 1-1251/1251 | 100.00 | 98.80 | NP_75 2609 | (entS) enterobactin exporter iron-regulated [enterobactin (IA019)] [Escherichia coli CFT073] |
| fepB | 1-957/957 | 100.00 | 99.79 | NP_75 2610 | (fepB) ferrienterobactin ABC transporter periplasmic binding protein [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entC | 1-1188/1188 | 100.00 | 99.66 | NP_75 2611 | (entC) isochorismate synthase 1 [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entE | 1-1611/1611 | 100.00 | 99.13 | NP_75 2612 | (entE) 23-dihydroxybenzoate-AMP ligase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entB | 1-858/858 | 100.00 | 99.18 | NP_75 2613 | (entB) isochorismatase [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entA | 1-747/747 | 100.00 | 98.39 | NP_75 2614 | (entA) 23-dihydro-23-dihydroxybenzoate dehydrogenase [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 14-137/771 | 15.95 | 91.20 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 15-132/771 | 15.18 | 83.90 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 14-132/771 | 15.30 | 82.50 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| ompA | 1-1041/1041 | 100.00 | 99.52 | AAF37 887 | (ompA) outer membrane protein A [OmpA (VF0236)] [Escherichia coli O18:K1:H7 str. RS218] |

| | | | | | |
|-------------|-----------------|--------|-------|----------------------|---|
| csgG | 1-834/834 | 100.00 | 83.33 | NP_46 0110 | (csgG) curli production assembly/transport protein CsgG [Agf (VF0103)] [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2] |
| csgF | 1-417/417 | 99.04 | 80.76 | NP_46 0111 | (csgF) curli production assembly/transport protein CsgF [Agf (VF0103)] [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2] |
| csgE | 1-396/396 | 98.48 | 79.29 | NP_46 0112 | (csgE) curli production assembly/transport protein CsgE [Agf (VF0103)] [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2] |
| csgD | 1-651/651 | 100.00 | 81.26 | NP_46 0113 | (csgD) DNA-binding transcriptional regulator CsgD [curli fibers/thin aggregative fimbriae (AGF) (AI094)] [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2] |
| csgB | 1-456/456 | 99.78 | 83.59 | NP_46 0114 | (csgB) minor curlin subunit precursor curli nucleator protein CsgB [Agf (VF0103)] [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. LT2] |
| entD | 3-114/771 | 14.40 | 87.61 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| flgM | 91- 227/258 | 53.10 | 80.29 | YP_00 100676 6 | (flgM) negative regulator of flagellin synthesis [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| flgE | 1- 402/1260 | 31.75 | 77.23 | YP_00 100676 1 | (flgE) flagellar hook protein FlgE [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| flgG | 7-654/654 | 98.93 | 75.50 | YP_00 100675 9 | (flgG) flagellar basal-body rod protein FlgG [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| flgH | 127- 678/684 | 80.70 | 78.80 | YP_00 100675 8 | (flgH) flagellar L-ring protein precursor FlgH [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| flgJ | 94- 260/924 | 18.07 | 75.29 | YP_00 100675 6 | (flgJ) flagellar rod assembly protein/muramidase FlgJ [Flagella (VF0394)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| fimB | 1-603/603 | 100.00 | 98.18 | NP_75 7239 | (fimB) Type 1 fimbriae Regulatory protein fimB [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimE | 1-597/597 | 100.00 | 98.66 | NP_75 7240 | (fimE) Type 1 fimbriae Regulatory protein fimE [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |

| | | | | | |
|-------------|-----------------------|--------|-------|----------------------|---|
| fimA | 1-606/606 | 100.00 | 92.24 | NP_75 7241 | (fimA) Type-1 fimbrial protein A chain precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimI | 1-540/540 | 100.00 | 98.33 | NP_75 7242 | (fimI) Fimbrin-like protein fimI precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimC | 1-726/726 | 100.00 | 98.48 | NP_75 7243 | (fimC) Chaperone protein fimC precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimD | 1- 2637/263 7 | 100.00 | 98.26 | NP_75 7244 | (fimD) Outer membrane usher protein fimD precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimF | 1-534/534 | 100.00 | 97.38 | NP_75 7245 | (fimF) FimF protein precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimG | 1-504/504 | 100.00 | 98.02 | NP_75 7247 | (fimG) FimG protein precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| fimH | 1-912/912 | 100.00 | 97.15 | NP_75 7248 | (fimH) FimH protein precursor [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-141/771 | 18.03 | 86.62 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| cheD | 795- 1518/167 4 | 43.25 | 77.21 | YP_00 100677 8 | (cheD) methyl-accepting chemotaxis protein CheD [peritrichous flagella (AI145)] [Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica 8081] |
| entD | 7-98/771 | 11.80 | 87.10 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-136/771 | 17.51 | 91.97 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-136/771 | 17.38 | 81.75 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 14- 127/771 | 14.66 | 82.76 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 10- 140/771 | 16.60 | 79.39 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-137/771 | 17.64 | 87.68 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |

| | | | | | |
|--------------|------------------------|--------|--------|---------------|---|
| entD | 14- 117/771 | 13.36 | 88.57 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| espL1 | 1- 797/1899 | 41.92 | 95.23 | NP_28 8154 | (espL1) Type III secretion system effector espL1 [LEE encoded T3SS (SS020)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| espL1 | 1667- 1899/189 9 | 12.22 | 94.42 | NP_28 8154 | (espL1) Type III secretion system effector espL1 [LEE encoded T3SS (SS020)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| entD | 10- 132/771 | 15.82 | 81.45 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| kpsD | 1- 1677/167 7 | 100.00 | 99.05 | AAA21 682 | (kpsD) KpsD [K1 capsule (VF0239)] [Escherichia coli O18:K1:H7 str. RS218] |
| kpsT | 1-660/660 | 100.00 | 100.00 | AAA24 047 | (kpsT) KpsT [K1 capsule (VF0239)] [Escherichia coli O18:K1:H7 str. RS218] |
| kpsM | 1-777/777 | 100.00 | 99.87 | AAA24 046 | (kpsM) KpsM [K1 capsule (VF0239)] [Escherichia coli O18:K1:H7 str. RS218] |
| gspM | 1-422/423 | 99.76 | 93.60 | YP_40 4609 | (gspM) general secretion pathway protein M [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspL | 1-861/861 | 100.00 | 94.77 | YP_40 4608 | (gspL) general secretion pathway protein L [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspK | 1-978/978 | 100.00 | 96.63 | YP_40 4607 | (gspK) general secretion pathway protein K [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspJ | 1-570/570 | 100.00 | 94.39 | YP_40 4606 | (gspJ) general secretion pathway protein J [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspI | 1-372/372 | 100.00 | 92.20 | YP_40 4605 | (gspI) general secretion pathway protein I [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspH | 1-531/531 | 100.00 | 94.73 | YP_40 4604 | (gspH) general secretion pathway protein H [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspG | 1-456/456 | 100.00 | 96.05 | YP_40 4603 | (gspG) general secretion pathway protein G [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |

| | | | | | |
|-------------|-------------|--------|--------|-----------|---|
| gspF | 1-1200/1200 | 100.00 | 94.17 | YP_404602 | (gspF) general secretion pathway protein F [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspE | 1-1494/1494 | 100.00 | 94.91 | YP_404601 | (gspE) general secretion pathway protein E [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspD | 1-1836/1836 | 100.00 | 96.06 | YP_404600 | (gspD) general secretion pathway protein D [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| gspC | 1-831/831 | 100.00 | 93.86 | YP_404599 | (gspC) general secretion pathway protein C [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| entD | 1-136/771 | 17.51 | 79.56 | NP_752599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-140/771 | 18.03 | 86.53 | NP_752599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 15-132/771 | 15.18 | 85.71 | NP_752599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-126/771 | 16.21 | 88.98 | NP_752599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuV | 1-801/801 | 100.00 | 99.75 | NP_756180 | (chuV) ATP-binding hydrophilic protein ChuV [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuU | 1-993/993 | 100.00 | 99.50 | NP_756179 | (chuU) heme permease protein ChuU [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuY | 1-624/624 | 100.00 | 98.40 | NP_756178 | (chuY) ChuY [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuX | 1-495/495 | 100.00 | 100.00 | NP_756177 | (chuX) putative heme-binding protein ChuX [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuW | 1-1338/1338 | 100.00 | 99.10 | NP_756176 | (chuW) Putative oxygen independent coproporphyrinogen III oxidase [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuT | 1-993/993 | 100.00 | 99.70 | NP_756175 | (chuT) periplasmic heme-binding protein ChuT [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |

| | | | | | |
|-----------------------|---------------------|--------|-------|---------------|---|
| chuA | 1- 1947/194 7 | 100.00 | 99.69 | NP_75 6170 | (chuA) Outer membrane heme/hemoglobin receptor ChuA [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| chuS | 1- 1029/102 9 | 100.00 | 99.51 | NP_75 6169 | (chuS) heme oxygenase ChuS [Chu (VF0227)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 11- 114/771 | 13.36 | 85.85 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 11- 140/771 | 16.73 | 85.61 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-137/771 | 17.64 | 90.65 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-137/771 | 17.38 | 81.16 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 10- 132/771 | 14.53 | 84.68 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-129/771 | 16.60 | 83.85 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 2-114/771 | 14.53 | 88.60 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| fliP | 530- 743/768 | 27.86 | 79.44 | NP_25 0137 | (fliP) flagellar biosynthetic protein FliP [Flagella (VF0273)] [Pseudomonas aeruginosa PAO1] |
| entD | 5-125/771 | 15.56 | 80.99 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| vat | 1- 4131/413 1 | 100.00 | 99.69 | NP_75 2330 | (vat) Haemoglobin protease [Tsh (VF0233)] [Escherichia coli CFT073] |
| yagV/ ecpE | 1-754/756 | 99.74 | 98.41 | NP_28 6006 | (yagV/ecpE) E. coli common pilus chaperone EcpE [ECP (VF0404)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| yagW/ ecpD | 1- 1644/164 4 | 100.00 | 99.15 | NP_28 6007 | (yagW/ecpD) polymerized tip adhesin of ECP fibers [ECP (VF0404)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |

| | | | | | |
|-----------------------|------------------------|--------|-------|----------------------|---|
| yagX/ ecpC | 1- 2526/252 6 | 100.00 | 97.66 | NP_28 6008 | (yagX/ecpC) E. coli common pilus usher EcpC [ECP (VF0404)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| yagY/ ecpB | 1-669/669 | 100.00 | 98.06 | NP_28 6009 | (yagY/ecpB) E. coli common pilus chaperone EcpB [ECP (VF0404)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| yagZ/ ecpA | 1-588/588 | 100.00 | 98.47 | NP_28 6010 | (yagZ/ecpA) E. coli common pilus structural subunit EcpA [ECP (VF0404)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| ykgK/ ecpR | 1-591/591 | 100.00 | 99.32 | NP_28 6011 | (ykgK/ecpR) regulator protein EcpR [ECP (VF0404)] [Escherichia coli O157:H7 str. EDL933] |
| fdeC | 1- 4251/425 1 | 100.00 | 99.62 | YP_00 239013 2 | (fdeC) adhesin FdeC [FdeC (VF0506)] [Escherichia coli O45:K1:H7 str. S88] |
| fimE | 400- 537/597 | 23.12 | 82.61 | NP_75 7240 | (fimE) Type 1 fimbriae Regulatory protein fimE [Type 1 fimbriae (VF0221)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-131/771 | 16.86 | 84.85 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| katB | 1231- 1343/219 6 | 5.15 | 80.53 | YP_09 6397 | (katB) catalase-peroxidase KatB [KatAB (VF0168)] [Legionella pneumophila subsp. pneumophila str. Philadelphia 1] |
| entD | 15- 124/771 | 14.14 | 88.29 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| aslA | 1- 1428/142 8 | 100.00 | 98.46 | AAG10 151 | (aslA) putative arylsulfatase [AslA (VF0238)] [Escherichia coli O18:K1:H7 str. RS218] |
| entD | 1-119/771 | 15.30 | 86.67 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 3-136/771 | 17.25 | 85.19 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 1-113/771 | 14.14 | 82.30 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| entD | 11- 114/771 | 13.36 | 93.33 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |

| | | | | | |
|-------------|---------------------|--------|-------|---------------|---|
| entD | 15- 131/771 | 15.05 | 86.56 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| gspG | 37- 233/456 | 43.20 | 79.19 | YP_40 4603 | (gspG) general secretion pathway protein G [T2SS (VF0333)] [Shigella dysenteriae Sd197] |
| entD | 1-141/771 | 18.03 | 83.80 | NP_75 2599 | (entD) phosphopantetheinyl transferase component of enterobactin synthase multienzyme complex [Enterobactin (VF0228)] [Escherichia coli CFT073] |
| iucA | 1- 1782/178 2 | 100.00 | 99.83 | NP_70 9454 | (iucA) aerobactin synthesis protein IucA [Aerobactin (VF0123)] [Shigella flexneri 2a str. 301] |
| iucB | 1-948/948 | 100.00 | 99.79 | NP_70 9455 | (iucB) aerobactin synthesis protein IucB [Aerobactin (VF0123)] [Shigella flexneri 2a str. 301] |
| iucC | 1- 1743/174 3 | 100.00 | 98.16 | NP_75 5500 | (iucC) aerobactin siderophore biosynthesis protein IucC [Aerobactin (VF0229)] [Escherichia coli CFT073] |
| iucD | 1- 1323/133 8 | 98.80 | 96.30 | NP_75 5499 | (iucD) L-lysine 6-monooxygenase IucD [Aerobactin (VF0229)] [Escherichia coli CFT073] |
| iutA | 1- 2280/228 0 | 99.96 | 88.36 | NP_75 5498 | (iutA) ferric aerobactin receptor precursor IutA [Aerobactin (VF0229)] [Escherichia coli CFT073] |
| sat | 1- 3900/390 0 | 100.00 | 99.49 | NP_75 5494 | (sat) Accreted auto transpoter toxin [Sat (VF0231)] [Escherichia coli CFT073] |
| senB | 2- 1140/114 0 | 99.91 | 99.74 | YP_40 6304 | (senB) enterotoxin [ShET2 (VF0258)] [Shigella flexneri 2a str. 301] |
| papI | 1-234/234 | 100.00 | 94.87 | NP_75 5468 | (papI) regulatory protein PapI [P fimbriae (VF0220)] [Escherichia coli CFT073] |
| papB | 1-315/315 | 99.68 | 98.41 | | (papB) regulatory protein PapB [P fimbriae (VF0220)] [Escherichia coli CFT073] |
| papA | 1-216/600 | 35.50 | 88.58 | NP_75 5467 | (papA) P pilus major subunit PapA [P fimbriae (VF0220)] [Escherichia coli CFT073] |

| | | | | | |
|-------------|-----------|--------|-------|---------------|---|
| papX | 1-552/552 | 100.00 | 97.46 | NP_75 5457 | (papX) PapX protein regulates flagellum synthesis to repress motility [P fimbriae (CVF425)] [Escherichia coli CFT073] |
|-------------|-----------|--------|-------|---------------|---|

Tabell 3: Resistensgener identifisert ved søk i databasene NCBI og CARD.

| GENE | COVERAGES | % | % | IDENTIFICATION | ACCESION | PRODUCT | RESISTANCE |
|-----------------------|-------------------|--------|--------|----------------|-------------|--|-----------------|
| Prøve 3 | | | | | | | |
| catB7 | 1-63 9/63 9 | 100.00 | 98.12 | nbc | NG_047614.1 | type B-4 chloramphenicol O-acetyltransferase CatB7 | CHLORAMPHENICOL |
| fosA-354827590 | 1-40 8/40 8 | 100.00 | 92.75 | nbc | NG_047883.1 | FosA family fosfomycin resistance glutathione transferase | FOSFOMYCIN |
| blaOXA-395 | 1-78 9/78 9 | 100.00 | 100.00 | nbc | NG_049684.1 | OXA-50 family oxacillin-hydrolyzing class D beta-lactamase OXA-395 | BETA-LACTAM |

| | | | | | | | |
|--------------------|------------|------|-----|--------------|--------------------|---|--|
| aph(3')-Iib | 1-807/807 | 1000 | 986 | n c bi | NG_047424.1 | aminoglycoside O-phosphotransferase APH(3')-Iib | KANAMYCIN |
| blaPDC-374 | 1-1215/215 | 1000 | 986 | n c bi | NG_065926.1 | class C beta-lactamase PDC-374 | CEPHALOSPORIN |
| crpP | 1-198/198 | 1000 | 989 | n c bi | NG_062203.1 | ciprofloxacin resistance protein CrpP | FLUOROQUINOLONE |
| crpP | 1-198/198 | 1000 | 985 | n c bi | NG_062203.1 | ciprofloxacin resistance protein CrpP | FLUOROQUINOLONE |
| MexE | 1-1245/245 | 1000 | 985 | c ar d | AE004091.2:2809988 | MexE is the membrane fusion protein of the MexEF-OprN multidrug efflux complex. | aminocoumarin/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/triclosan/tetracycline/acridine_dye/macrolide/fluoroquinolone/penam/monobactam/glycylcycline/phenicol |
| MexF | 1-3189/3 | 1000 | 989 | c ar d | AE004091.2:8100 | MexF is the multidrug inner membrane transporter of the MexEF-OprN complex. mexF corresponds to 2 loci in Pseudomonas aeruginosa PAO1 (gene | penam/fluoroquinolone/macrolide/acridine_dye/tetracycline/triclosan/phenicol/glycylcycline/monobactam/aminocoumarin/antibacterial_free_fatty_acids/aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem |

| | | | | | | | |
|-------------|---------------------------------|----------|---------|--------------|--|---|--|
| | 18 9 | | | | 09- 2813 198 | name: mexF/mexB) and 4 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58 (gene name: mexD/mexB). | |
| OprN | 1- 14 19 /1 41 9 | 10 0. | 9. 6 | c ar d | AE0 0409 1.2:2 8131 94- 2814 613 | OprN is the outer membrane channel component of the MexEF-OprN multidrug efflux complex. | carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin/monobactam/glycylcycline/phenicol/tetracycline/triclosan/acridine_dye/macrolide/fluoroquinolone/penam |
| OpmB | 1- 14 97 /1 49 7 | 10 0. | 8. 1 | c ar d | AE0 0409 1.2:2 8462 83- 2847 780 | OpmB is an outer membrane efflux protein in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> that shows functional cooperation with MuxABC to form the efflux pump system MuxABC-OpmB. | acridine_dye/triclosan/tetracycline/fluoroquinolone/penam/macrolide/phenicol/glycylcycline/monobactam/aminocoumarin/aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem/antibacterial_free_fatty_acids |
| MuxC | 1- 31 11 /3 11 1 | 10 0. | 9. 0 | c ar d | AE0 0409 1.2:2 8477 76- 2850 887 | MuxC is one of the two necessary RND components of the MuxABC-OpmB efflux pumps system in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . | macrolide/penam/fluoroquinolone/tetracycline/triclosan/acridine_dye/monobactam/glycylcycline/phenicol/aminocoumarin/antibacterial_free_fatty_acids/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside |
| MuxB | 1- 31 32 /3 13 2 | 10 0. | 9. 5 | c ar d | AE0 0409 1.2:2 8508 83- 2854 015 | MuxB is one of the two necessary RND components in the <i>Pseudomonas aeruginosa</i> efflux pump system MuxABC-OpmB. | antibacterial_free_fatty_acids/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/aminocoumarin/monobactam/glycylcycline/phenicol/macrolide/fluoroquinolone/penam/tetracycline/triclosan/acridine_dye |

| | | | | | | | |
|-------------|-------------|------|-----|---|--------------------|--|---|
| MuxA | 1-1281/1281 | 1000 | 90 | c | AE004091.2:2855292 | MuxA is a membrane fusion protein component of the efflux pump system MuxABC-OpmB in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . | monobactam/glycylcycline/phenicol/macrolide/penam/fluoroquinolone/triclosan/tetracycline/acridine_dye/antibacterial_free_fatty_acids/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/aminocoumarin |
| ArmR | 1-162/162 | 1000 | 907 | c | AE004091.2:4165881 | ArmR a 53-amino-acid antirepressor allosterically inhibits MexR dimer-DNA binding by occupying a hydrophobic binding cavity within the center of the MexR dimer. ArmR up-regulation and MexR-ArmR complex formation have previously been shown to upregulate MexAB-OprM. | antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/penam/sulfonamide/penam/macrolide/aminoglycoside/carbapenem/cephamycin/aminocoumarin/peptide/phenicol/glycylcycline/monobactam/fluoroquinolone/cephalosporin/acridine_dye/tetracycline/triclosan |
| mexL | 1-639/639 | 1000 | 907 | c | AE004091.2:4121108 | MexL is a specific repressor of mexJK transcription and autoregulates its own expression. | aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin/phenicol/glycylcycline/monobactam/acridine_dye/tetracycline/triclosan/penam/fluoroquinolone/macrolide |
| mexJ | 1-1104/1104 | 1000 | 902 | c | AE004091.2:4120374 | mexJ is the membrane fusion protein of the MexJK multidrug efflux protein. | aminocoumarin/diaminopyrimidine/carbapenem/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/acridine_dye/triclosan/tetracycline/macrolide/fluoroquinolone/penam/glycylcycline/monobactam/phenicol |
| mexK | 1-3078/3078 | 1000 | 905 | c | AE004091.2:41161 | mexK is the inner membrane resistance-nodulation-cell division (RND) transporter in the MexJK multidrug efflux protein. | aminocoumarin/antibacterial_free_fatty_acids/aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem/penam/fluoroquinolone/macrolide/acridine_dye/triclosan/tetracycline/phenicol/glycylcycline/monobactam |

| | | | | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------|----------------|--------------|--------------|--|---|--|
| | 07 8 | | | | 88- 4119 266 | | |
| arnA | 1- 19 89 /1 98 9 | 10 0. 00 | 9 3 0 | c ar d | AE0 0409 1.2:3 9820 21- 3984 010 | arnA modifies lipid A with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (Ara4N) which allows gram-negative bacteria to resist the antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides and antibiotics such as polymyxin. arnA is found in E. coli and P. aeruginosa. | peptide |
| mexP | 1- 11 58 /1 15 8 | 10 0. 00 | 9 8. 0 | c ar d | AB2 1952 4.1:2 3- 1181 | MexP is the membrane fusion protein of the MexPQ-OpmE multidrug efflux complex | penam/macrolide/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/fluoroquinolone/triclosan/tetracycline/acridine_dye/phenicol/monobactam/glycylcycline/aminocoumarin/aminoglycoside/carbapenem |
| mexQ | 1- 31 62 /3 16 2 | 10 0. 00 | 9 1 1 | c ar d | AB2 1952 4.1:1 177- 4339 | MexQ is the inner membrane transporter of the multidrug efflux pump MexPQ-OpmE. | glycylcycline/monobactam/phenicol/fluoroquinolone/acridine_dye/tetracycline/triclosan/carbapenem/aminoglycoside/aminocoumarin/macrolide/penam/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine |
| opmE | 1- 14 76 /1 47 6 | 10 0. 00 | 9 2 5 | c ar d | AB2 1952 4.1:4 335- 5811 | opmE is an outer membrane factor protein that is part of the multidrug efflux pump MexPQ-OpmE. | aminocoumarin/aminoglycoside/carbapenem/fluoroquinolone/acridine_dye/tetracycline/triclosan/phenicol/glycylcycline/monobactam/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/penam/macrolide |
| Pseudomonas_aeruginosa_CpxR | 1- 67 8/ | 10 0. 00 | 9 4 1 | c ar d | LT6 7365 6.1:1 8843 | CpxR is directly involved in activation of expression of RND efflux pump MexAB-OprM in P. aeruginosa. CpxR is required to enhance mexAB- | sulfonamide/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/penem/macrolide/penam/cephamycin/peptide/aminocoumarin/carbapenem/aminoglycoside/cep |

| | | | | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------|----------|-------------------|------------------|--|--|--|
| | 67 8 | | | | 45- 1885 023 | oprM expression and drug resistance in the absence of repressor MexR. | halosporin/fluoroquinolone/acridine_dye/tetracycline/triclosan/glycylcycline/monobactam/phenicol |
| basS | 1- 14 34 /1 43 4 | 10 0. | 9 8. 6 7 | c a r d | JQ34 0365 :1- 1435 | Histidine protein kinase sensor Lipid A modification gene; part of a two-component system involved in polymyxin resistance that senses high extracellular Fe(2+) | peptide |
| OpmH | 1- 14 49 /1 44 9 | 10 0. | 9 9. 3 1 | c a r d | AE0 0409 1.2:5 5841 01- 5585 550 | OpmH is an outer membrane efflux protein required for triclosan-specific efflux pump function. | carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin/monobactam/glycylcycline/phenicol/tetracycline/triclosan/acridine_dye/macrolide/penam/fluoroquinolone |
| Pseudomonas_aeruginosa_emrE | 1- 33 3/ 33 3 | 10 0. | 9 8. 8 0 | c a r d | AE0 0409 1.2:5 6061 03- 5606 436 | EmrE is a small multidrug transporter that functions as a homodimer and that couples the efflux of small polyaromatic cations from the cell with the import of protons down an electrochemical gradient. Confers resistance to tetraphenylphosphonium methyl viologen gentamicin kanamycin and neomycin. | phenicol/aminoglycoside/macrolide/tetracycline/aminocoumarin |
| PmpM | 1- 14 34 /1 43 4 | 10 0. | 9 9. 3 7 | c a r d | AE0 0409 1.2:1 4725 47- 1473 981 | PmpM is a multidrug efflux pump belonging to the MATE family of Pseudomonas aeruginosa. PmpM is an H ⁺ drug antiporter and is the first reported case of an H ⁺ coupled efflux pump in the MATE family. PmpM confers resistance to fluoroquinolones fradiomycin benzalkonium chloride chlorhexidine gluconate ethidium bromide tetraphenylphosphonium chloride (TPPCI) and rhodamine 6G. | aminoglycoside/glycylcycline/fluoroquinolone/benzalkonium_chloride/tetracycline/acridine_dye |

| | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------------|-------|------|--------|--------------------------|--|---|
| MexA | 1-1152/1152 | 10.00 | 9.31 | c ar d | AE004091.2:472024-473176 | MexA is the membrane fusion protein of the MexAB-OprM multidrug efflux complex. | macrolide/penam/antibacterial_free_fatty_acids/penem/diaminopyrimidine/sulfonamide/monobactam/phenicol/cephalosporin/fluoroquinolone/acridine_dye/peptide/aminocoumarin/glycylcycline/triclosan/tetracycline/carbapenem/aminoglycoside/cephamycin |
| MexB | 1-3141/3141 | 10.00 | 9.55 | c ar d | L11616:1570-4711 | MexB is the inner membrane multidrug exporter of the efflux complex MexAB-OprM. | triclosan/tetracycline/glycylcycline/cephamycin/carbapenem/aminoglycoside/macrolide/penam/sulfonamide/antibacterial_free_fatty_acids/penem/diaminopyrimidine/cephalosporin/fluoroquinolone/acridine_dye/monobactam/phenicol/peptide/aminocoumarin |
| OprM | 1-1458/1458 | 10.00 | 8.42 | c ar d | AE004091.2:476333-477791 | OprM is an outer membrane factor protein found in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Burkholderia vietnamiensis</i> . It is part of the MexAB-OprM MexVW-OprM MexXY-OprM and the AmrAB-OprM complex. | phenicol/monobactam/fluoroquinolone/cephalosporin/acridine_dye/aminocoumarin/peptide/penam/macrolide/antibacterial_free_fatty_acids/penem/diaminopyrimidine/sulfonamide/glycylcycline/triclosan/tetracycline/aminoglycoside/carbapenem/cephamycin |
| smeR | 234-362/690 | 18.70 | 9.84 | c ar d | AF173226.1:352-1042 | smeR is the responder component of a two component signal transduction system that includes smeS | tetracycline/triclosan/acridine_dye/fluoroquinolone/penam/cephalosporin/macrolide/phenicol/monobactam/glycylcycline/aminocoumarin/cephamycin/aminoglycoside/carbapenem/diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids |
| Pseudomonas_aeruginosa_catB7 | 1-639/639 | 10.00 | 8.12 | c ar d | NC_002516.2:779463- | catB7 is a chromosome-encoded variant of the cat gene found in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | phenicol |

| | | | | | | | |
|-------------|-------------|------|-----|---|-----------------------------|--|--|
| | | | | | 780102 | | |
| mexM | 1-1158/1158 | 1000 | 907 | c | AB219523.1:2-1180 | mexM is the membrane fusion protein of the MexMN-OprM multidrug efflux complex. | macrolide/fluoroquinolone/penam/triclosan/tetracycline/acridine_dye/monobactam/glycylcycline/phenicol/aminocoumarin/antibacterial_free_fatty_acids/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside |
| mexN | 1-3111/3111 | 1000 | 909 | c | AB219523.1:176-4287 | MexN is the inner membrane transporter of the MexMN-OprM multidrug efflux complex. | tetracycline/triclosan/acridine_dye/macrolide/fluoroquinolone/penam/monobactam/glycylcycline/phenicol/aminocoumarin/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids |
| mexW | 1-3057/3057 | 1000 | 904 | c | NC_002516.2:4904647-4907704 | MexW is the RND-type membrane protein of the efflux complex MexVW-OprM. | monobactam/glycylcycline/phenicol/macrolide/fluoroquinolone/penam/triclosan/tetracycline/acridine_dye/antibacterial_free_fatty_acids/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/aminocoumarin |
| mexV | 1-3113/3113 | 1000 | 902 | c | AE004091.2:4903466-4904597 | MexV is the membrane fusion protein of the MexVW-OprM multidrug efflux complex. | fluoroquinolone/penam/macrolide/tetracycline/triclosan/acridine_dye/phenicol/monobactam/glycylcycline/aminocoumarin/antibacterial_free_fatty_acids/aminoglycoside/carbapenem/diaminopyrimidine |
| TriA | 1-1152/1152 | 1000 | 906 | c | AE004091.2:17730 | TriA is a membrane protein that is fused to TriB and both are required for the triclosan efflux pump function of TriABC-OpmH in <i>P. aeruginosa</i> . | aminocoumarin/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/carbapenem/aminoglycoside/macrolide/penam/fluoroquinolone/acridine_dye/tetracycline/triclosan/glycylcycline/monobactam/phenicol |

| | | | | | | | |
|---------------|---------------------------------|----------|---------|--------------|--|---|--|
| | 15 2 | | | | 7- 1784 59 | | |
| TriB | 1- 10 71 /1 07 1 | 10 0. | 9. 3 | c ar d | AE0 0409 1.2:1 7845 5- 1795 26 | TriB is a membrane protein that is fused to TriA and both are required for the triclosan efflux pump function of TriABC-OpmH in <i>P. aeruginosa</i> . | phenicol/monobactam/glycylcycline/triclosan/tetracycline/acridine_dye/fluoroquinolone/penam/macrolide/aminoglycoside/carbapenem/diaminopyrimidine/antibacterial free fatty acids/aminocoumarin |
| TriC | 1- 30 48 /3 04 8 | 10 0. | 9. 2 | c ar d | AE0 0409 1.2:1 7952 2- 1825 70 | TriC is a resistance nodulation cell division (RND) transporter that is a part of TriABC-OpmH a triclosan-specific efflux protein. | tetracycline/triclosan/acridine_dye/macrolide/fluoroquinolone/penam/monobactam/glycylcycline/phenicol/aminocoumarin/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial free fatty acids |
| fosA | 1- 40 8/ 40 8 | 10 0. | 9. 7 | c ar d | AE0 0409 1.2:1 2216 91- 1222 099 | An enzyme that confers resistance to fosfomycin in <i>Serratia marcescens</i> by breaking the epoxide ring of the molecule. It depends on the cofactors Manganese (II) and Potassium and uses Glutathione (GSH) as the nucleophilic molecule. In <i>Pseudomonas aeruginosa</i> FosA catalyzes the conjugation of glutathione to carbon-1 of fosfomycin rendering it ineffective as an antibacterial drug. | fosfomycin |
| OXA-50 | 1- 78 9/ 78 9 | 10 0. | 9. 7 | c ar d | AY3 0613 0:1- 790 | OXA-50 is a beta-lactamase found in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . It confers decreased susceptibility to ampicillin and ticarcillin and interestingly to moxalactam and meropenem in <i>P. aeruginosa</i> but not in <i>E. coli</i> . Also confers resistance to piperacillin-tazobactam and cephalotin. | cephalosporin/penam |

| | | | | | | | |
|--------------------|--------------|----|---|---|----------------------------|--|--|
| bcr-1 | 1-1209/12029 | 10 | 9 | c | CP012901.1:5979157-5980366 | Transmembrane protein which expels bicyclomycin from the cell leading to bicyclomycin resistance. Identified in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains responsible for outbreaks in Brazil often appearing with blaSPM-1 another bicyclomycin resistance gene | bicyclomycin/antibacterial_free_fatty_acids/diamino pyrimidine/lincosamide/isoniazid/benzalkonium_chloride/rifamycin/nitroimidazole/nucleoside/macrolide/penam/rhodamine/peptide/fosfomycin/glycylcycline/phenicol/cephalosporin/fluoroquinolone/oxazolidinone/acridine_dye/tetracycline |
| APH(3')-IIb | 1-807/807 | 10 | 8 | c | X90856:388-1195 | APH(3')-IIb is a chromosomal-encoded aminoglycoside phosphotransferase in <i>P. aeruginosa</i> | aminoglycoside |
| PDC-10 | 1-1194/194 | 10 | 9 | c | FJ666073:1-1195 | PDC-10 is a extended-spectrum beta-lactamase found in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . | carbapenem/monobactam/cephalosporin |
| MexC | 1-1164/164 | 10 | 9 | c | U57969:295-1459 | MexC is the membrane fusion protein of the MexCD-OprJ multidrug efflux complex. | diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/penam/macrolide/aminoglycoside/carbapenem/aminocoumarin/phenicol/glycylcycline/monobactam/acridine_dye/tetracycline/triclosan/fluoroquinolone/cephalosporin |
| MexD | 1-3132/3132 | 99 | 9 | c | U57969:1486-4618 | MexD is the multidrug inner membrane transporter of the MexCD-OprJ complex. | penam/macrolide/diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/phenicol/glycylcycline/monobactam/acridine_dye/triclosan/tetracycline/fluoroquinolone/cephalosporin/aminoglycoside/carbapenem/aminocoumarin |

| | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------|----|---|---|---------------------------|--|--|
| OprJ | 1-1440/1440 | 10 | 9 | c | U57969:4623-6063 | OprJ is the outer membrane channel component of the MexCD-OprJ multidrug efflux complex. | aminocoumarin/aminoglycoside/carbapenem/tetracycline/triclosan/acridine_dye/fluoroquinolone/cephalosporin/phenicol/monobactam/glycylcycline/diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/penam/macrolide |
| Pseudomonas_aeruginosa_soxR | 1-471/471 | 10 | 9 | c | AE004091.2:2503896 | SoxR is a redox-sensitive transcriptional activator that induces expression of a small regulon that includes the RND efflux pump-encoding operon mexGHI-opmD. SoxR was shown to be activated by pyocyanin. | glycylcycline/tetracycline/triclosan/carbapenem/aminoglycoside/rifamycin/monobactam/phenicol/fosfomycin/acridine_dye/oxazolidinone/cephalosporin/fluoroquinolone/peptide/aminocoumarin/rhodamine/nucleoside/pleuromutilin/nitroimidazole/macrolide/penam/diaminopyrimidine/bicyclomycin/antibacterial_free_fatty_acids/isoniazid/lincosamide/benzalkonium_chloride |
| opmD | 1-1464/1464 | 10 | 9 | c | AE004091.2:4712085 | OpmD is the outer membrane channel protein of the efflux complex MexGHI-OpmD. | diaminopyrimidine/carbapenem/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin/glycylcycline/monobactam/phenicol/acridine_dye/tetracycline/triclosan/macrolide/fluoroquinolone/penam |
| mexI | 1-3090/3090 | 10 | 9 | c | NC_002516:4707535-4710625 | MexI is the inner membrane transporter of the efflux complex MexGHI-OpmD. | triclosan/tetracycline/acridine_dye/macrolide/fluoroquinolone/penam/monobactam/glycylcycline/phenicol/aminocoumarin/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids |
| mexH | 1-113/113 | 10 | 9 | c | AE004091.2:47064 | MexH is the membrane fusion protein of the efflux complex MexGHI-OpmD. | aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin/phenicol/glycylcycline/monobactam/acridine_dye/tetracycline/triclosan/fluoroquinolone/penam/macrolide |

| | | | | | | | |
|---|----------------|------|------|--------|----------------------------|--|--|
| | 113 | | | | 10-4707523 | | |
| mexG | 1-447/447 | 1000 | 908 | c ar d | AE004091.2:4705956-4706403 | MexG is a membrane protein required for MexGHI-OpmD efflux activity. | antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/carbapenem/aminoglycoside/aminocoumarin/glycylcycline/monobactam/phenicol/macrolide/fluoroquinolone/penam/acridine_dye/triclosan/tetracycline |
| Nocardia_rifampin_resistant_beta-subunit_of_RNA_polymerase_(rpoB2) | 2605-2772/3489 | 482 | 708 | c ar d | AP006618.1:4835200-4838689 | Due to gene duplication the genomes of Nocardia species include both rifampin-sensitive beta-subunit of RNA polymerase (rpoB) and rifampin-resistant beta-subunit of RNA polymerase (rpoB2) genes with ~88% similarity between the two gene products. Expression of the rpoB2 variant results in replacement of rifampin sensitivity with rifampin resistance. | rifamycin |
| Bifidobacterium_adolescentis_rpoB_conferri ng_resistance_to_rifampicin | 2968-3323/3498 | 1015 | 7081 | c ar d | AP009256:1667064-1670562 | Bifidobacterium are antibiotic resistant probiotics are prescribed to upkeep the population beneficial bacteria in the gut microbiome. However horizontal gene transfer among gut microbes could create harmful antibiotic-resistant pathogenic bacteria such as Mycobacterium tuberculosis. Lokesh et al. analyzed Bifidobacterium antitubercular drug resistance and mutations in rpo###. They found that B. animalis B. longum and B. adolescentis showed considerable resistance to pyrazinamide isoniazid and streptomycin while B. adolescentis had mutations both in the rifampicin (RIF) pocket and in regions outside the pockets and also showed considerable resistance to RIF. | rifamycin |

| | | | | | | | |
|----------------|-------------|---------|----|--------|--------------------------|---|---|
| mexY | 1-3141/3141 | 99.850 | 8. | c ar d | AB015853:1331-4472 | MexY is the RND-type membrane protein of the efflux complex MexXY-OprM. | phenicol/glycylcycline/monobactam/fluoroquinolone/cephalosporin/acridine_dye/tetracycline/triclosan/aminoglycoside/carbapenem/cephamycin/aminocoumarin/penam/macrolide/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine |
| mexX | 1-1170/1170 | 100.000 | 8. | c ar d | AB015853:146-1316 | MexX is the membrane fusion protein of the MexXY-OprM multidrug efflux complex. | antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/macrolide/penam/carbapenem/aminoglycoside/cephamycin/aminocoumarin/glycylcycline/monobactam/phenicol/cephalosporin/fluoroquinolone/acridine_dye/tetracycline/triclosan |
| CrpP | 1-198/198 | 100.000 | 8. | c ar d | HM560971.1:119072-119270 | A plasmid-encoded ciprofloxacin resistance protein identified from a Pseudomonas aeruginosa plasmid. CrpP confers resistance to ciprofloxacin by antibiotic inactivation through phosphorylation. Described by Chavez-Jacobo et al. 2018. | fluoroquinolone |
| CrpP | 1-198/198 | 100.000 | 4. | c ar d | HM560971.1:119072-119270 | A plasmid-encoded ciprofloxacin resistance protein identified from a Pseudomonas aeruginosa plasmid. CrpP confers resistance to ciprofloxacin by antibiotic inactivation through phosphorylation. Described by Chavez-Jacobo et al. 2018. | fluoroquinolone |
| Prøve 4 | | | | | | | |
| blaEC-5 | 1-1134/1134 | 100.000 | 9. | n c bi | NG_049085.1 | cephalosporin-hydrolyzing class C beta-lactamase EC-5 | CEPHALOSPORIN |

| | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------|------------------------------|---|--|
| | 13 4 | | | | | | |
| tet(B) | 1- 12 06 /1 20 6 | 10 0. 00 | 10 0. 00 | n c bi | NG_ 0481 63.1 | tetracycline efflux MFS transporter Tet(B) | TETRACYCLINE |
| erm(B) | 1- 73 8/ 73 8 | 10 0. 00 | 9 9. 8 6 | n c bi | NG_ 0478 04.1 | 23S rRNA (adenine(2058)-N(6))-methyltransferase Erm(B) | MACROLIDE |
| mph(A) | 1- 92 1/ 92 1 | 10 0. 00 | 9 8. 7 1 | n c bi | NG_ 0479 86.1 | Mph(A) family macrolide 2'-phosphotransferase | MACROLIDE |
| blaCTX-M-15 | 1- 87 6/ 87 6 | 10 0. 00 | 10 0. 00 | n c bi | NG_ 0489 35.1 | class A extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 | CEPHALOSPORIN |
| dfrA17 | 1- 47 4/ 47 4 | 10 0. 00 | 9 9. 7 9 | n c bi | NG_ 0477 10.1 | trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase DfrA17 | TRIMETHOPRIM |
| Escherichia coli emrE | 1- 33 3/ | 10 0. 00 | 9 2. 1 9 | c ar d | Z118 77.1: 486- 819 | Member of the small MDR (multidrug resistance) family of transporters; in Escherichia coli this protein provides resistance against a number of positively charged compounds including ethidium | tetracycline/aminocoumarin/macrolide/aminoglycoside/phenicol |

| | | | | | | | |
|-------------|---------------------------------|---------------|-------------------|--------------|--|---|--|
| | 33 3 | | | | | bromide and erythromycin; proton-dependent secondary transporter which exchanges protons for compound translocation | |
| mdtK | 1- 14 09 /1 42 5 | 98 .7 4 | 7 5 0 5 | c ar d | CP0 1435 8.1:2 1613 26- 2162 751 | A multidrug and toxic compound extrusions (MATE) transporter conferring resistance to norfloxacin doxorubicin and acriflavine. | glycylcycline/fluoroquinolone/tetracycline/acridine_dye |
| ugd | 1- 11 67 /1 16 7 | 10 0. | 9 7 0 0 | c ar d | U00 096: 2098 447- 2099 614 | PmrE is required for the synthesis and transfer of 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (Ara4N) to Lipid A which allows gram-negative bacteria to resist the antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides and antibiotics such as polymyxin | peptide |
| mdtA | 1- 12 48 /1 24 8 | 10 0. | 9 5 7 5 | c ar d | U00 096: 2154 016- 2155 264 | MdtA is the membrane fusion protein of the multidrug efflux complex mdtABC. | antibacterial_free_fatty_acids/aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem/aminocoumarin/phenicol/glycylcycline/monobactam/penam/fluoroquinolone/macrolide/acridine_dye/triclosan/tetracycline |
| mdtB | 1- 31 23 /3 12 3 | 10 0. | 9 5 9 0 | c ar d | U00 096: 2155 263- 2158 386 | MdtB is a transporter that forms a heteromultimer complex with MdtC to form a multidrug transporter. MdtBC is part of the MdtABC-TolC efflux complex. | aminocoumarin/aminoglycoside/diaminopyrimidine/carbapenem/antibacterial_free_fatty_acids/acridine_dye/tetracycline/triclosan/penam/fluoroquinolone/macrolide/phenicol/glycylcycline/monobactam |
| mdtC | 1- 30 78 /3 | 10 0. | 9 3. 9 2 | c ar d | U00 096: 2158 386- | MdtC is a transporter that forms a heteromultimer complex with MdtB to form a multidrug transporter. MdtBC is part of the MdtABC-TolC efflux complex. In the absence of MdtB MdtC can form a | diaminopyrimidine/carbapenem/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin/glycylcycline/monobactam/phenicol/acridine_dye/triclosan/tetracycline/macrolide/fluoroquinolone/penam |

| | | | | | | | |
|-------------|---------------------------------|---------------------|-------------------|--------------|---|---|--|
| | 07 8 | | | 2161 464 | homomultimer complex that results in a functioning efflux complex with a narrower drug specificity. mdtC corresponds to 3 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 (gene name: muxC/muxB) and 3 loci in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58. | | |
| baeS | 1- 14 04 /1 40 4 | 10 0. 6 00 | 9 0. 6 0 | c ar d | AP0 0904 8:21 6501 3- 2166 417 | BaeS is a sensor kinase in the BaeSR regulatory system. While it phosphorylates BaeR to increase its activity BaeS is not necessary for overexpressed BaeR to confer resistance. | aminocoumarin/carbapenem/diaminopyrimidine/aminoglycoside/antibacterial_free_fatty_acids/tetracycline/triclosan/acridine_dye/macrolide/fluoroquinolone/penam/monobactam/glycylcycline/phenicol |
| baeR | 1- 72 2/ 72 3 | 99 .8 6 | 9 6. 6 8 | c ar d | AP0 0904 8.1:2 1664 13- 2167 136 | BaeR is a response regulator that promotes the expression of MdtABC and AcrD efflux complexes. | phenicol/monobactam/glycylcycline/tetracycline/triclosan/acridine_dye/penam/fluoroquinolone/macrolide/aminoglycoside/carbapenem/diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/aminocoumarin |
| yojI | 1- 16 44 /1 64 4 | 10 0. 00 | 9 7. 9 3 | c ar d | U00 096. 3:23 0697 2- 2308 616 | YojI mediates resistance to the peptide antibiotic microcin J25 when it is expressed from a multicopy vector. YojI is capable of pumping out microcin molecules. The outer membrane protein TolC in addition to YojI is required for export of microcin J25 out of the cell. Microcin J25 is thus the first known substrate for YojI. | peptide/nitroimidazole/rifamycin/pleuromutilin/penam/fluoroquinolone/cephalosporin/macrolide/tetracycline/acridine_dye |
| pmrF | 1- 96 9/ 96 9 | 10 0. 00 | 9 7. 7 3 | c ar d | U00 096: 2367 071- 2368 040 | PmrF is required for the synthesis and transfer of 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (Ara4N) to Lipid A which allows gram-negative bacteria to resist the antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides and antibiotics such as polymyxin. pmrF corresponds to 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | peptide |

| | | | | | | |
|------------------------------|-----------|--------|------|--------|--|---|
| | | | | | PAO1 and 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58. | |
| kdpE | 1-673/678 | 99.26 | 5.84 | c ar d | U00096.3:721056-721734 kdpE is a transcriptional activator that is part of the two-component system KdpD/KdpE that is studied for its regulatory role in potassium transport and has been identified as an adaptive regulator involved in the virulence and intracellular survival of pathogenic bacteria. kdpE regulates a range of virulence loci through direct promoter binding. | aminoglycoside |
| Escherichia coli mdfA | 1-33/1233 | 100.00 | 6.35 | c ar d | JQ394987:1-1234 Multidrug efflux pump in <i>E. coli</i> . This multidrug efflux system was originally identified as the Cmr/CmlA chloramphenicol exporter. | antibacterial_free_fatty_acids/bicyclomycin/diaminopyrimidine/isoniazid/lincosamide/benzalkonium_chloride/rifamycin/nitroimidazole/nucleoside/macrolide/penam/rhodamine/peptide/fofosfomycin/glycylcycline/phenicol/cephalosporin/fluoroquinolone/tetracycline/acridine_dye/oxazolidinone |
| msbA | 1-49/1749 | 100.00 | 8.06 | c ar d | U00096.3:966621-968370 MsbA is a multidrug resistance transporter homolog from <i>E. coli</i> and belongs to a superfamily of transporters that contain an adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) which is also called a nucleotide-binding domain (NBD). MsbA is a member of the MDR-ABC transporter group by sequence homology. MsbA transports lipid A a major component of the bacterial outer cell membrane and is the only bacterial ABC transporter that is essential for cell viability. | peptide/rifamycin/pleuromutilin/nitroimidazole/tetracycline/acridine_dye/cephalosporin/macrolide/penam/fluoroquinolone |
| mdtG | 1-27/1227 | 100.00 | 8.37 | c ar d | CP000800.1:1191728-1192955 The MdtG protein also named YceE appears to be a member of the major facilitator superfamily of transporters and it has been reported when overexpressed to increase fosfomycin and deoxycholate resistances. mdtG is a member of the marA-soxS-rob regulon. | macrolide/penam/rifamycin/nitroimidazole/nucleoside/isoniazid/lincosamide/benzalkonium_chloride/bicyclomycin/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/cephalosporin/fluoroquinolone/acridine_dye/oxazolidinone/tetracycline/fofosfomycin/glycylcycline/phenicol/rhodamine/peptide |

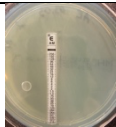
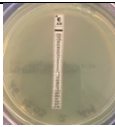
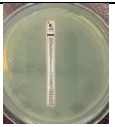
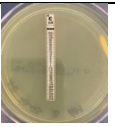

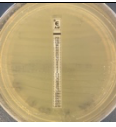

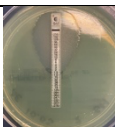
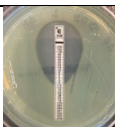
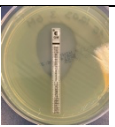

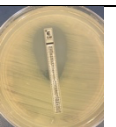
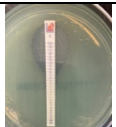
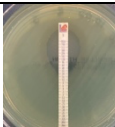
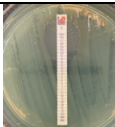
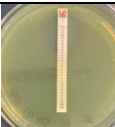
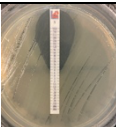
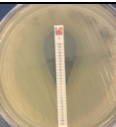
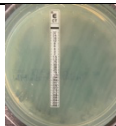
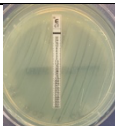
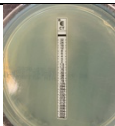


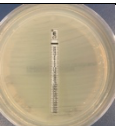


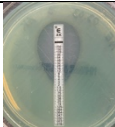
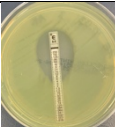
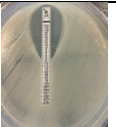
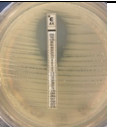
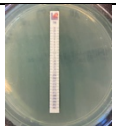
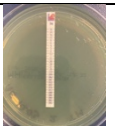
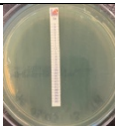
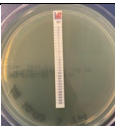
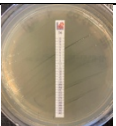
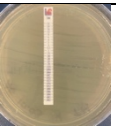



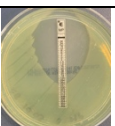
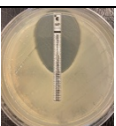

| | | | | | | | |
|--|-------------|--------|------|--------|------------------------|--|--|
| mdtH | 1-1209/1209 | 108002 | 8.02 | c ar d | U00096:1124-1125327 | Multidrug resistance protein MdtH | nitroimidazole/rifamycin/nucleoside/penam/macrolide/antibacterial_free_fatty_acids/bicyclomycin/diaminopyrimidine/benzalkonium_chloride/isoniazid/lincosamide/fosfomycin/phenicol/glycylcycline/fluoroquinolone/cephalosporin/tetracycline/acridine_dye/oxazolidinone/rhodamine/peptide |
| acrD | 1-3114/3114 | 108002 | 9.52 | c ar d | AP009048.1:2589365 | AcrD is an aminoglycoside efflux pump expressed in <i>E. coli</i> . Its expression can be induced by indole and is regulated by baeRS and cpxAR. | aminocoumarin/aminoglycoside/carbapenem/diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/tetracycline/triclosan/acridine_dye/fluoroquinolone/penam/macrolide/phenicol/monobactam/glycylcycline |
| Escherichia coli ampC1_beta-lactamase | 1-83/1305 | 6.36 | 9.79 | c ar d | FN649414.1:2766356 | An ampC-like beta-lactamase identified from <i>Escherichia coli</i> . | cephalosporin/penam |
| evgS | 1-3594/3594 | 108004 | 9.44 | c ar d | U00096:2484374-2487968 | EvgS is a sensor protein that phosphorylates the regulatory protein EvgA. evgS corresponds to 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 and 1 locus in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LESB58. | triclosan/tetracycline/acridine_dye/oxazolidinone/fluoroquinolone/cephalosporin/phenicol/monobactam/glycylcycline/fosfomycin/aminocoumarin/peptide/rhodamine/aminoglycoside/carbapenem/penam/macrolide/nucleoside/nitroimidazole/rifamycin/benzalkonium_chloride/isoniazid/lincosamide/diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/bicyclomycin |
| evgA | 1-615/615 | 108000 | 0.00 | c ar d | BA000007.3:3212026- | EvgA when phosphorylated is a positive regulator for efflux protein complexes emrKY and mdtEF. While usually phosphorylated in a EvgS dependent manner it can be phosphorylated in the absence of EvgS when overexpressed. | diaminopyrimidine/antibacterial_free_fatty_acids/bicyclomycin/benzalkonium_chloride/isoniazid/lincosamide/nucleoside/nitroimidazole/rifamycin/penam/macrolide/aminoglycoside/carbapenem/aminocoumarin/peptide/rhodamine/phenicol/monobactam/glycylcycli |

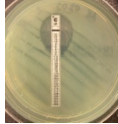
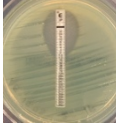

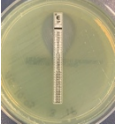

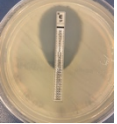
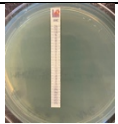
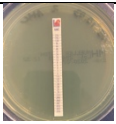
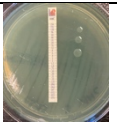
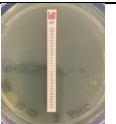
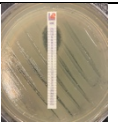
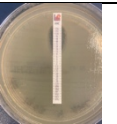
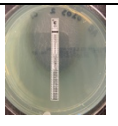
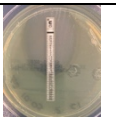
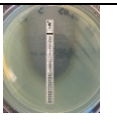
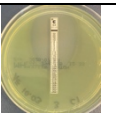
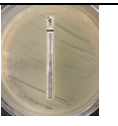
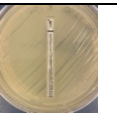
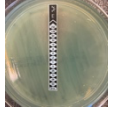
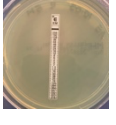
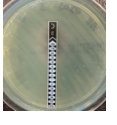
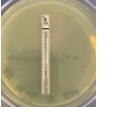
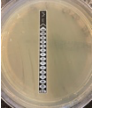
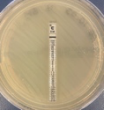
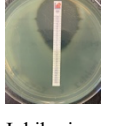
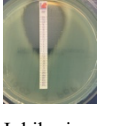
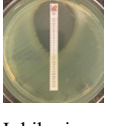
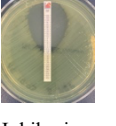
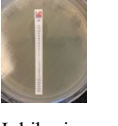
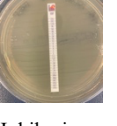
| | | | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------|----|---|---|--|--------------|---|
| | | | | | 3212 641 | | ne/fosfomycin/triclosan/tetracycline/oxazolidinone/acridine dye/fluoroquinolone/cephalosporin |
| emrK | 1-1056 /1056 | 10 | 7 | 9 | D78 168: 537- 1593 | c ar d | emrK is a membrane fusion protein that is a homolog of EmrA. Together with the inner membrane transporter EmrY and the outer membrane channel TolC it mediates multidrug efflux. |
| emrY | 1-1539 /1539 | 10 | 7 | 9 | D78 168: 1592 - | c ar d | emrY is a multidrug transport that moves substrates across the inner membrane of the Gram-negative E. coli. It is a homolog of emrB. |
| Klebsiella pneumoniae KpnF | 6-330 /330 | 98 | 5 | 7 | AP0 0672 5.1:2 4842 39- 2484 569 | c ar d | KpnF subunit of KpnEF resembles EbrAB from E. coli. Mutation in KpnEF resulted in increased susceptibility to cefepime ceftriaxon colistin erythromycin rifampin tetracycline and streptomycin as well as enhanced sensitivity toward sodium dodecyl sulfate deoxycholate dyes benzalkonium chloride chlorhexidine and triclosan. |
| | | | | | | | fosfomycin/glycylcycline/phenicol/cephalosporin/fluoroquinolone/acridine dye/oxazolidinone/tetracycline/aminoglycoside/rhodamine/peptide/rifamycin/nitroimidazole/nucleoside/macrolide/penam/bicyclomycin/antibacterial_free_fatty_acids/diaminopyrimidine/isoniazid/lincosamide/benzalkonium chloride |

Tabell 4: Mutasjoner observert i *gyrA*, *parC* og *parE* fra prøve 4 ved hjelp av verktøyet «ResFinder» i NCBI.

| <i>gyrA</i> | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|----------|
| Mutation | Nucleotide change | Amino acid change | Resistance | PMID |
| <i>gyrA</i> p.S83L | TCG → TTG | S → L | Nalidixic acid,Ciprofloxacin | 8891148 |
| <i>gyrA</i> p.D87N | GAC → AAC | D → N | Nalidixic acid,Ciprofloxacin | 12654733 |
| <i>parC</i> | | | | |
| Mutation | Nucleotide change | Amino acid change | Resistance | PMID |
| <i>parC</i> p.S80I | AGC → ATC | S → I | Nalidixic acid,Ciprofloxacin | 8851598 |
| <i>parE</i> | | | | |
| Mutation | Nucleotide change | Amino acid change | Resistance | PMID |
| <i>parE</i> p.L416F | CTT → TTT | L → F | Nalidixic acid,Ciprofloxacin | 14510643 |

Tabell 1: Petriskålene og gjennomsnittlig inhiberingsoneverdi etter antibiotika sensitivitetstesting på prøve 2,3 og 4 med antibiotikastrips.

| Antibiotikum | Prøve 2 | | Prøve 3 | | Prøve 4 | |
|--------------|--|--|--|---|--|--|
| | Første testing | Andre testing | Første testing | Andre testing | Første testing | Andre testing |
| Ampicillin |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |
| Gentamicin |  Inhiberingsone: 1,5 |  Inhiberingsone: 1,0 |  Inhiberingsone: 2 |  Inhiberingsone: 3 |  Inhiberingsone: 2 |  Inhiberingsone: 2 |
| Streptomycin |  Inhiberingsone: 48 |  Inhiberingsone: 24 |  Inhiberingsone: 32 |  Inhiberingsone: 32 |  Inhiberingsone: 8 |  Inhiberingsone: 6 |
| Cefotaksim |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |
| Amikacin |  Inhiberingsone: 3 |  Inhiberingsone: 2 |  Inhiberingsone: 3 |  Inhiberingsone: 4 |  Inhiberingsone: 3 |  Inhiberingsone: 4 |
| Trimetoprim |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |  Ingen inhiberingsone |
| Meropenem |  Inhiberingsone: 0,125 |  Inhiberingsone: 0,064 |  Inhiberingsone: 0,125 |  Inhiberingsone: 0,064 |  Inhiberingsone: 0,125 |  Inhiberingsone: 0,047 |

| | | | | | | |
|--|---|---|---|--|--|---|
| <p>Imipenem</p> |  <p>Inhiberings- sone: 3</p> |  <p>Inhiberings- sone: 1,5</p> |  <p>Inhiberings- sone: 2</p> |  <p>Inhiberings- sone: 1,0</p> |  <p>Inhiberings- sone: 0,25</p> |  <p>Inhiberings- sone: 0,125</p> |
| <p>Amoxicillin med klauvulansyre</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Inhiberings- sone: 12</p> |  <p>Inhiberings- sone: 16</p> |
| <p>Ciprofloxacin</p> |  <p>Inhiberings- sone: 0,094</p> |  <p>Inhiberings- sone: 0,094</p> |  <p>Inhiberings- sone: 0,064</p> |  <p>Inhiberings- sone: 0,064</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |
| <p>Erytromycin</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |  <p>Ingen inhiberingssone</p> |
| <p>Cefepim</p> |  <p>Inhiberings- sone: 2</p> |  <p>Inhiberings- sone: 1,5</p> |  <p>Inhiberings- sone: 2</p> |  <p>Inhiberings- sone: 1,0</p> |  <p>Inhiberings- sone: 48</p> |  <p>Inhiberings- sone: 32</p> |



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway